

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ОТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ НОРМЫ ДО НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

Авдалян А.М., Климачев В.В., Лазарев А.Ф.

*Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул*

**В статье авторы показали изменение ploидности и площади ядер слизистой оболочки желудка при фоновых, предраковых заболеваниях и раке желудка различного гистологического строения с помощью компьютерного анализатора изображения. При дисплазии тяжелой степени площадь и ploидность ядра составили  $213,7 \pm 3,42$  мкм<sup>2</sup> и  $10,2 \pm 0,2с$  соответственно. При высокодифференцированной аденокарциноме эти показатели достигают  $375,0 \pm 17,0$  мкм<sup>2</sup> и  $16,2 \pm 2,7с$ . Авторы предположили, что полученные данные могут быть использованы для более объективной оценки патологических процессов в слизистой желудка и дифференциальнодиагностических вопросов между дисплазиями и раком желудка.**

Установлено, что при усилении пролиферативных процессов, в том числе при малигнизации тканей повышается содержание ДНК в ядрах клеток. [1 – 3, 10]. При этом выявлена четкая корреляция между количеством ДНК в ядре и хромосомным набором клеток. Это позволило использовать результаты микроспектрофотометрических данных содержания Фельген – ДНК в ядрах клеток в качестве объективного теста для определения ploидности клеток. На основе этих данных стала возможной оценка степени гетерогенности клеточных популяций пролиферирующей и озлокачествляющейся ткани.

В практической деятельности морфолога наиболее сложными остаются вопросы дифференциальной диагностики между дисплазиями различной степени и, что особенно актуально, между тяжелой дисплазией и высокодифференцированной аденокарциномой. Исследованию содержания ДНК в ядрах клеток слизистой оболочки желудка посвящено небольшое число работ [4, 7-9, 11, 13]. Большинство из них отражает изменения содержания ДНК в клетках злокачественных опухолей желудка и лишь единичные – при фоновых и предраковых поражениях. Полученные данные разноречивы. По данным Казанцевой И.А., при гастрите содержание ДНК в ядрах эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка существенно отличается от нормы: преобладают тетраплоидные клетки, значительно содержание параоктаплоидных клеток. По данным других авторов [7] при дисплазии III степени преобладали диплоидные клетки, а при неинвазивном раке преобладали тетра- и октаплоидные, среднее содержание ДНК для дисплазии III степени триплоидное, неинвазивный рак характеризовался паратетраплоидным набором. Нами не обнаружены работы, в которых про-

дили морфометрическую оценку площади ядра клетки слизистой оболочки желудка в процессе озлокачествления и изучения коррелятивных взаимоотношений ploидность – площадь ядра при решении дифференциальнодиагностических вопросов.

Из сказанного выше можно предположить, что определение изменения содержания ДНК и соответственно ploидности ядра может быть использовано как один из маркеров пролиферативной активности эпителия желудка и как возможный критерий оценки изменений состояния слизистой оболочки желудка от воспалительных изменений до неопластического перерождения, а также при раке желудка различного гистологического строения. Кроме того, широкое внедрение в практическую деятельность врачей компьютерных технологий и программ при оценке морфометрических параметров клеток позволяет более объективно судить о характере изменений.

Работа выполнена на биопсийном и операционном материале (172 больной в возрасте от 14 – 80 лет, в том числе 92 мужчин и 80 женщин).

Исследовано 26 случаев атрофического гастрита; 25 с признаками неполной кишечной метаплазии без дисплазии; с кишечной метаплазией в сочетании со слабой и умеренной дисплазией – 5; с дисплазией эпителия желез I – II степени - 6 и дисплазией III степени - 4.

Изучено 6 высокодифференцированных аденокарцином, 21 умеренно дифференцированная, 13 низкодифференцированных; недифференцированного рака было 16; перстневидноклеточного рака – 10, рака сложного гистологического строения - 30. Контролем служили 10 микропрепаратов из патологически неизменной слизи-

стой оболочки желудка, полученных при гастробиопсии.

Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, кусочки ткани заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали по методу Фельгена (продолжительность гидролиза 90 мин при комнатной температуре), параллельно окрашивали гематоксилином и эозином, проводили реакцию Гримелиуса, ШИК – реакцию, окрашивали альциановым синим. Для суждения об общем количестве генетического материала в ткани или опухоли использовали обобщенный показатель кинетики количества ДНК – «индекс накопления» ДНК (ИНДНК) в единицах плоидности [1], представляющую собой взвешенную среднюю арифметическую и предложенный отечественными авторами «индекс клональной пролиферации» – ИКП (отношение средних показателей ИНДНК для изучаемых стадий канцерогенеза к показателям, характеризующим исходную

нормальную ткань [3]. В каждом препарате определяли содержание ДНК в ядрах 25 - 30 клеток ростковой зоны в гистологическом срезе, интерфазных клетках рака, а также в ядрах 25 – 30 малых лимфоцитов. Среднее содержание ДНК в ядре лимфоцита принимали за диплоидное значение (2c). Затем рассчитывали содержание ДНК в эпителиальных и опухолевых клетках в единицах плоидности. В оценке данных использовали компьютерную технологию для гистологической и цитологической техники с применением анализатора изображений, состоящего из микроскопа LEICA Laborlux, черно – белой видеокамеры JVC, фреймграббера и компьютера Pentium II с программным обеспечением “ВидеоТест – Морфо”. Данные микроспектрофотометрии обрабатывали статистически с использованием критерия достоверности Стьюдента, Манна – Уитни, корреляцию определяли по методу Пирсона.

**Таблица 1.** Дифференциально-диагностические морфометрические параметры при фоновых и предраковых изменениях ядер эпителия слизистой желудка

Изменения эпителия	Площадь ядра мкм <sup>2</sup>	ИНДНК в ед плоидности (с)	ИКП
Норма (n=10)	50,6±1,0	2,3±0,1	0,3
Гастрит атрофический (n=26)	75,57±6,02	2,7±0,1	0,7
Кишечная метаплазия (n=25)	97,2±5,06	3,2±0,2	1,2
Дисплазия легкая, умеренная (n=6)	147,15±10,54	5,5±0,5	3,5
Дисплазия тяжелая (n=4)	213,7±3,42	10,2±0,2	8,2

Из приведенных в таблице данных видно, что содержание ДНК в единицах плоидности в патологически неизменной ткани не превышало 2,3±0,1с, а площадь ядра составила 50,6±1,0 мкм<sup>2</sup>. При атрофическом гастрите эти данные изменились в сторону увеличения плоидности и площади ядра и составили 2,7±0,1с и 75,57±6,02 мкм<sup>2</sup> соответственно. При анализе кишечной метаплазии без дисплазии выявлено, что средняя арифметическая плоидности ядер возрастала и составила 3,2±0,2с, площадь ядер возросла до 97,2±5,06мкм<sup>2</sup>.

Дисплазия эпителия желез I - II степени характеризовалась дальнейшим увеличением плоидности и площади ядер до 5,5±0,5с и 147,15±10,54 мкм<sup>2</sup> соответственно. Последующее нарастание диспластических изменений эпителия до III степени привело к повышению плоидности ядер до 10,2±0,2с, а площадь ядер составила 213,7±3,42 мкм<sup>2</sup>.

Приведенные данные свидетельствуют о повышении плоидности и соответственно пролиферативной активности в цепочке изменений от гистологической нормы (2,3±0,1с) до дисплазии тяжелой степени (10,2±0,2с). Наряду с плоидностью ядер клеток слизистой оболочки ценным

морфометрическим параметром оказалась площадь ядер клеток в процессе малигнизации (различия статистически достоверны p<0,05).

Полученные данные свидетельствуют о дальнейшем изменении плоидности и площади ядер в неопластически измененном эпителии слизистой оболочки желудка. Так, при аденокарциноме высокой степени дифференцировки средняя арифметическая плоидности ядер раковых клеток составила 16,2±2,7с, а площадь ядер была 375,02±17,0 мкм<sup>2</sup>. Дальнейшее уменьшение дифференцировки аденокарциномы сопровождалось достоверным снижением содержания ДНК в единицах плоидности и площади ядер до 9,7±1,4с и 296,6±16,0 мкм<sup>2</sup> при умеренной дифференцировке и 7,6±1,1с и 216,2±17,0 мкм<sup>2</sup> в случае аденокарциномы низкой степени дифференцировки (t=2,3; p<0,05). Недифференцированный рак характеризовался снижением плоидности и площади ядер раковых клеток (5,3±0,9 и 156,3±13,5 мкм<sup>2</sup> соответственно). В опухолях сложного гистологического строения плоидность составила 6,3±2,3с, площадь раковых клеток – 187,4±63,8 мкм<sup>2</sup>. Такое стандартное отклонение свидетельствует о выраженной разнонаправленности дифференцировки клеток такого типа рака.

Наименьшим показателем плоидности и площади ядер обладает перстневидноклеточный рак -  $3,4 \pm 0,6$ с и  $119,7 \pm 15,0$  мкм<sup>2</sup> соответственно. Полученные данные изменения плоидности соот-

ветствуют литературным данным [6] и их достоверность не вызывает сомнений.

**Таблица 2.** Дифференциально-диагностические морфометрические параметры ядер опухолевых клеток при различных гистологических вариантах рака желудка

Тип опухоли	Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	ИНДНК в ед. плоидности (с)	ИКП
Аденокарцинома			
Высоко- (n=6)	375,02±17,0	16,2±2,7	14,2
Умеренно- (n=21)	296,6±16,0	9,7±1,4	7,7
Низкодифференцированная (n=13)	216,2±17,0	7,6±1,1	5,6
Перстневидноклеточный рак (n=10)	119,7±15,0	3,4±0,6	1,4
Сложного строения (n=30)	187,4±63,8	6,3±2,3	4,3
Недифференцированный рак (n=16)	156,3±13,5	5,3±0,9	3,3

При оценке корреляции между плоидностью и площадью ядра как раковых клеток, так и эпителиальных клеток при гастритах, кишечной метаплазии и дисплазии различной степени выявлена прямая линейная положительная корреляция ( $r=0,96$ ).

Обнаружены достоверные отличия плоидности ( $t=9,4$ ;  $p<0,05$ ) и площади ядер ( $t=6,0$ ;  $p<0,05$ ) между умеренной и тяжелой дисплазией эпителия, а также между тяжелой дисплазией и высококодифференцированной аденокарциномой.

Данные о содержании ДНК в ядрах эпителиальных клеток рака желудка, фоновых и предраковых процессах, полученные нами с помощью компьютерной микротелефотометрии, совпадают с результатами проточной цитофотометрии [10, 11, 12] и подтверждают высокую точность используемого способа измерения.

#### ВЫВОДЫ

Результаты кариометрического анализа наглядно демонстрируют кинетику увеличения размерных признаков ядра эпителиальных клеток по мере нарастания степени выраженности неопластической трансформации. Отмеченная коррелятивная зависимость между параметрами площади и плоидности ядер также позволяет рекомендовать оба этих показателя для использования в диагностических целях при морфометрическом анализе воспалительных изменений, кишечной метаплазии, дисплазии и рака желудка различного гистологического строения.

Выявленные достоверные отличия плоидности и площади ядер между умеренной и тяжелой дисплазией эпителия, а также между тяжелой дисплазией и высококодифференцированной аденокарциномой позволяют более широко использовать данные компьютерной гистоспектрофо-

тометрии в вопросах дифференциальной диагностики между дисплазиями и раком желудка.

Полученные данные подтверждают общую закономерность экспоненциального накопления ДНК в ядрах озлокачивающихся клеток.

Высокая плоидность ядер в аденокарциномах свидетельствует о том, что это, по – видимому, наиболее быстро растущие, активно пролиферирующие типы рака желудка, что совпадает с мнением авторов, которые полагают, что аденокарциномы обладают высокой пролиферативной активностью, что обуславливает высокую скорость роста и относительно короткое клиническое течение [5]. Недифференцированный рак, напротив, обладает более слабой пролиферативной активностью и небольшой скоростью роста опухоли, но вместе с тем низкая гистотипическая дифференцировка такого рака определяет высокую инвазивность их клеток, и относительно длительное клиническое течение, что обуславливает низкий процент 5-летней выживаемости после операции.

#### Литература:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Автандилов Г.Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии. – М.: РМАПО, 1998. – 256 с.
3. Автандилов Г.Г. //Вопр.онкол. – 2000. – Т.46. - №4. – С. 423 – 426.
4. Автандилов Г.Г., Василенко И.В. // Бюлл.экспер.биол., – 1977. Т. 35. - №7. – С.54 – 57.
5. Дикштейн Е.А., Василенко И.В., Шевченко Н.И., Мережко В.А. // Арх. патол. – 1979 - №7. - С. 25 – 32.

6. Жданов А.С., Несветов А.М. // Бюлл. эксперим. биол – 1981. – № 4. - С. 467 – 469.
7. Золотаревский В.Б., Склянская О.Л. // Арх. патол – 1985. - №12. - С.58 – 66.
8. Казанцева И.А. // Вопр.онкол. – 1973. – Т. XIX. - №9. – С.51 – 54.
9. Петрова А.С., Зубрихина Г.Н., Чистякова О.В., Лукина Т.А. // Арх. патол. – 1980. - №4. – С. 47 – 51.
10. Ташкэ К. Введение в количественную цито – гистологическую морфологию. – Издательство Академии Соц. Республики Румынии, 1980. – 191 с.
11. Setala L., Lipponen P., Kosma V., Marin S. et al. // J. Pathol. –1997. –181. –N 1. –С. 46-50.
12. Tribukait B.// Recent Results in Cancer Research. - 1993. -Vol. 133. P. 25-31
13. Xu Lei, Zhang Sumin, Zhou Zhongde. // Zhongguo yike daxue xuebao = J. China Med. Univ. –1998. –27. –N 3. –С.241-242, 246.

### **Dynamics changes of the contents DNA in nucleuses of cells of a mucous of a stomach from histological of norm up to neoplastics of changes**

Avdalyan A.M., Klimachev V.V., Lazarev A.F.

In clause the authors have shown change ploidy and area of nucleuses of a mucous environment of a stomach at background, preneoplastic diseases and cancer of a stomach various histological of a structure with the help of the computer analyzer of the image. At displasya of a heavy degree the area and ploidy of a nucleus was  $213,7 \pm 3,42$  microns and  $10,2 \pm 0,2c$  accordingly. At highgrade adenocarcinoma these parameters achieve  $375,0 \pm 17,0$  microns<sup>2</sup> and  $16,2 \pm 2,7c$ . The authors have assumed, that the received data can be used for more objective estimation of pathological processes in a mucous stomach and differential diagnostic of questions between displasyaes and cancer of a stomach.