



Morphological and Immunohistochemical Characteristics of Nodal Mastopathy

Khikmatova N. I.¹, Sanoev B. A.²

^{1,2} BukhSMI, Center for Family Planning and Reproduction "Dr. Nigin", Uzbekistan

Abstract: In 28 (18.7%) patients, mammography revealed the presence of a single and / or multiple focus of compaction with uneven, fuzzy contours, without sharp boundaries, passing into the surrounding tissue against the background of diffuse changes. In most of them - 12 (42.9%) patients, a local area of compaction was determined. As you know, the exact morphological characteristics of the biopsy material make it possible to choose the optimal tactics of management, which is very important in the future fate of the patient.

Keywords: mammary gland, mastopathy, biopsy, proliferation.

Актуальность: Одной из наиболее частых причин смерти от злокачественных новообразований среди женщин является рак молочной железы. Рак молочной железы представляет собой заболевание, неодинаковые по происхождению, патогенезу, особенностям распространения, методам диагностики.

Цель исследования. Целью данного исследования является изучение цитологических, гистологических и иммуногистохимических особенностей патологии молочной железы. Анализ цитологических, гистологических и иммуногистохимических особенностей патологии молочной железы проводили на основании официальной учетно-отчетной документации в лаборатории центра планирования семьи и репродукции «Dr. Nigin» Бухарской области за 2022 год.

Материалы и методы. Гистологическое исследование образцов тканей молочной железы производили при узловой мастопатии. Образцы фиксировали в нейтральном формалине (рН=7±0,2), затем заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. При исследовании использовали световой микроскоп МБИ 1120, цифровую фотокамеру DCM 130, персональный компьютер на базе Intel Pentium 4.

При гистологической верификации использовали рекомендации гистологической классификации опухолей молочной железы (ВОЗ, 2003).

Выделяли следующие формы фиброзно-кистозной болезни:

1. непролиферативную;
2. пролиферативную (без атипии клеток) с умеренной и выраженной степенью пролиферации млечного эпителия;
3. пролиферативную форму с атипией клеток.

Непролиферативная форма характеризовалась следующими основными признаками:

1. дольки не изменены или атрофичны;
2. протоки не изменены или расширены;
3. эпителий, выстилающий внутридольковые и внедольковые протоки, не изменён, представлен 1 -2 слоями или атрофичен;
4. ядра клеток нормохромные;
5. патологические митозы отсутствуют;
6. изменения внедольковой и внутридольковой стромы (усиленное развитие и/или гиалиноз).

В зависимости от преобладающих морфологических изменений среди непролиферативных форм фиброзно-кистозных изменений молочной железы выделяли следующие их варианты: дольковый; протоковый; смешанный.

При дольковом типе пролиферация эпителия имела место преимущественно во внутридольковых протоках; при протоковом — во внедольковых протоках; при смешанном - наблюдалась сочетанная картина.

При гистологическом описании структуры молочной железы при непролиферативной и пролиферативной форме фиброзно-кистозных изменений учитывалось наличие: кист; лимфоцитарной инфильтрации; миоэпителиальной гиперплазии; кистозных структур в протоках; фиброзирования ложевой (внутридольковой) стромы; солидных пролифератов в дольках и протоках; ложных и истинных сосочков; фиброаденомы и её гистологический тип (интраканаликулярная, периканаликулярная, смешанная).

С помощью **иммуногистохимического метода** исследования производилась оценка пролиферативной активности и апоптоза. Проллиферативная активность производилась на основании анализа содержания эндогенных маркера пролиферации - ядерного антигена Ki-67. Для выявления факторов, участвующих в регуляторных механизмах апоптоза осуществляли иммуногистохимическое определение белка Bcl-2. Маркёры исследовали на парафиновых срезах (толщина 5 мкм) авидинбиотиновым иммунопероксидным методом. Предварительно ткань молочной железы фиксировали в нейтральном формалине (pH-7,2). Перед постановкой реакции с антителами к внутриядерным маркерам Ki-67 и Bcl-2 проводили высокотемпературную демаскировку антигена в цитратном буфере (pH 7,6).

Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных мышиных антител Ki-67, Clone MIB1 Ki-67 (1:100, Dako); Bcl-2 clone 124(1:75, Dako). В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий биотинилированные анти-мышинные и анти-кроличьи иммуноглобулины. Для визуализации реакции применяли комплекс DAB chromogen и DAB substrate.

Степень экспрессии окрашенных клеток оценили в виде слабой, умеренной и высокой. Если в срезах в одном поле зрения находили менее 10 % окрашенных клеток, то экспрессию оценивали как слабую. Если имело место от 10 до 90% окрашенных клеток, то экспрессия считали умеренной. При наличии более 90% окрашенных клеток - высокая экспрессия.

При исследовании использовали световой микроскоп MBI 1120, цифровую фотокамеру DCM 130, персональный компьютер на базе Intel Pentium 4.

Результаты. Биоптаты узлового образования молочной железы 28 пациенток подвергались морфологическому и иммуногистохимическому исследованиям. В контрольную группу включены биопсийные материалы, взятые от трупов в аналогичном возрастном диапазоне, умерших от других причин, у которых не верифицирована какая-либо патология молочных желез.

При гистологическом исследовании биоптатов молочных желез преобладают её непролиферативные формы – у 20(71,4%) пациенток. Проллиферативные формы узловой

мастопатии без атипии гистологически верифицированы у 8(28,6%) пациенток, из них у 4 отмечена выраженная степень пролиферации эпителия. При этом в зависимости от преобладающих морфологических изменений выделены дольковый, протоковый и смешанный типы пролиферации эпителия.

Микроскопически определяли интраканаликулярные или смешанные фиброаденомы, часто с кистозно-расширенными протоками, в просвет которых выступают полиповидные соединительно-тканые выросты, покрытые одним или несколькими рядами кубического эпителия. Строма новообразования многоклеточная с участками миксоматоза, гиалиноза, хрящевой и костной ткани. Клетки стромы преимущественно веретено-образные с вытянутыми ядрами, складываются в пучки, переплетающиеся между собой. Встречаются также участки с пролиферацией гладкомышечных волокон. Новообразование напоминает так называемые смешанные, или мезодермальные опухоли, которые изредка встречаются в молочной железе. Местами в опухоли имели место участки, содержащие уродливые полиморфные клетки, митозы, фокусы кровоизлияний и некроза, несмотря на то, что это опухоль остается доброкачественной. Микроскопически имела место пролиферация как железистых, так и эпителиальных клеток.

Важно отметить, что иногда ацинусы железистых долек пролиферируют равномерно и сохраняют все морфологические признаки структуры физиологического аденоза - равномерного порядка увеличения клеток.

При этом выводные протоки каналцев и альвеолы железы покрыты насыщенным цитоплазматическим кубическим эпителием, во втором миоэпителиальном слое эпителий с гиперхромными ядрами и вакуолинизированной цитоплазмой.

При изучении биопсийного материала выявлено также, что если железистые альвеолы пролиферируя, переходят в аденоз, тогда железистые дольки имеют солидную и кривозную структуру. При этом выводные протоки и альвеолы железистых долек равномерно пролиферируют и покрыты мономорфными мелкими эпителиальными клетками (рис.1).

Равномерная пролиферация наблюдается в начальных стадиях заболевания, а со временем определяются уже полиморфные пролиферативные изменения железистой ткани (рис.2).

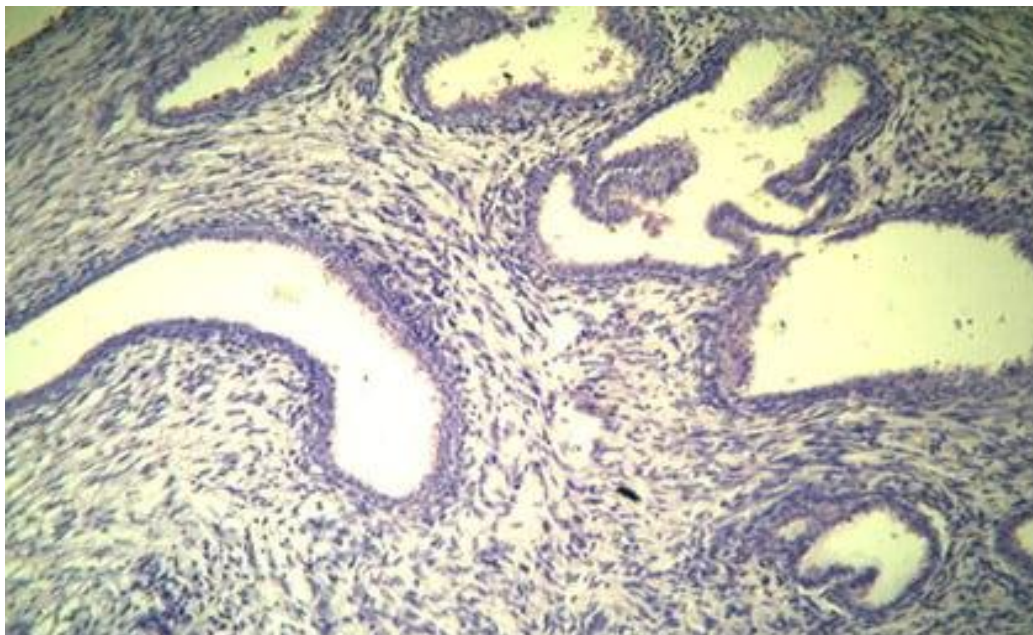


Рис.1. Больная В., 46 лет. Эпителиальная пролиферативная мастопатия. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что у большинства женщин с узловыми формами фиброзно-кистозной болезни – 20(71,4%) преобладают её непролиферативные формы. Проллиферативные формы узловой мастопатии гистологически

верифицированы у 8(28,6%) пациенток, из них у 4 отмечена выраженная степень пролиферации эпителия.

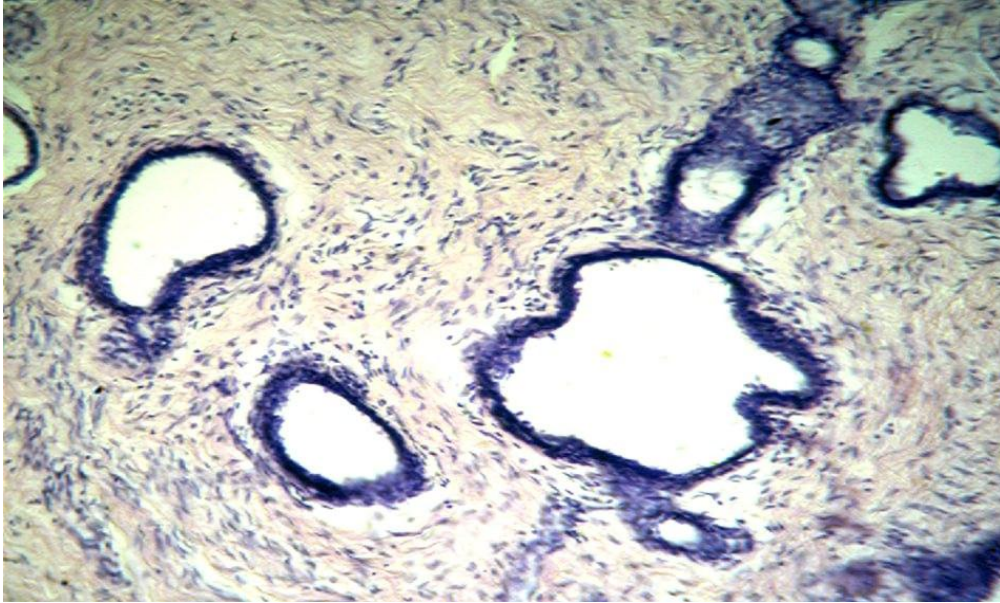


Рис.2. Больная С., 49 лет. Эпителиальная пролиферативная мастопатия. Полиморфная пролиферация железистых ацинусов и протоков. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40.

При этом наблюдается кистозное расширение выводных протоков железы, появление папилломатозных разрастаний в железистых дольках, лимфоцитарная инфильтрация, ложные и истинные сосочки, крибозные пролифераты, а также солидные пролифераты в протоках и дольках.

В норме ткань молочной железы состоит из долек, каждая доля в свою очередь, разделяется с помощью рыхлой соединительной тканью на мелкие дольки, которые заканчиваются маленькими дольками с альвеолами и протоками (рис.3).

В междольковой фиброзной ткани коллагеновые волокна встречаются мало. Она богата клеточными элементами, между коллагеновых волокон встречаются фибробласты, макрофаги, тучные клетки, эозинофилы и лимфоциты. Рост альвеол подчиняется менструальному циклу.

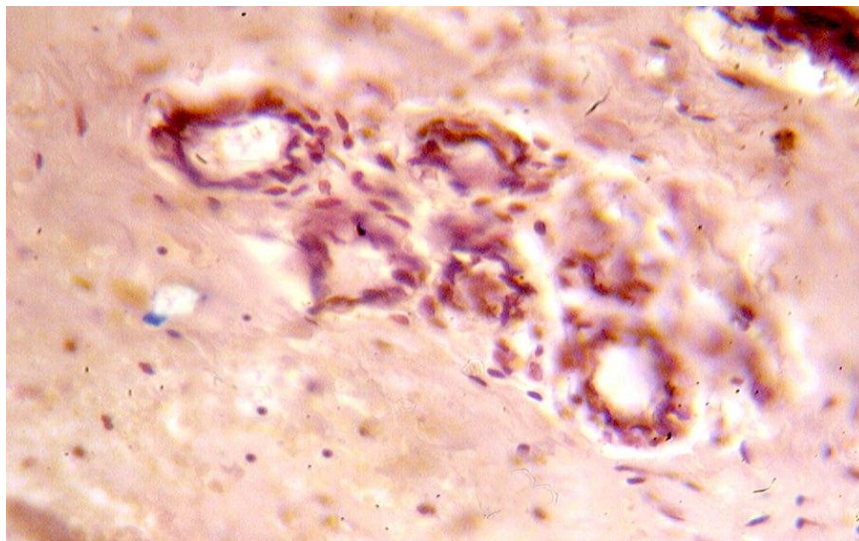


Рис.3. Больная А., 44 года. Протоки молочной железы равномерно покрыты железистым эпителием. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40.

Протоки молочной железы по диаметрам покрыты однослойным кубическим эпителием или цилиндрическим. Ближе к соскам они переходят в двухслойный эпителий. В сосках эпителий многослойный.

Как известно, скорость роста опухоли является важнейшим интегральным показателем особенностей ее клинического течения. Для определения пролиферативной активности узла молочной железы нами применялись антитела к Ki-67. Для изучения блокировки апоптотического механизма использовали моно-клональные антитела к Bcl-2. Из 28 биоптатов молочной железы верифицирован положительный иммуногистохимический результат у каждой 7-ой на Ki-67, у каждой 3-й на Bcl-2. Микроскопически выявлены изменения в выводных протоках. Эпителий, выстилающий полость желез, образуется при метаплазии обычного эпителия альвеол и протоков. При этом видно появление различных сосочковых разрастаний разного вида и величины за счёт пролиферации клеток. В таком эпителии ядра окрашиваются в коричневый цвет, что свидетельствует о при-сутствия гена Ki-67 в ткани и прогрессии роста опухоли (рис. 4).

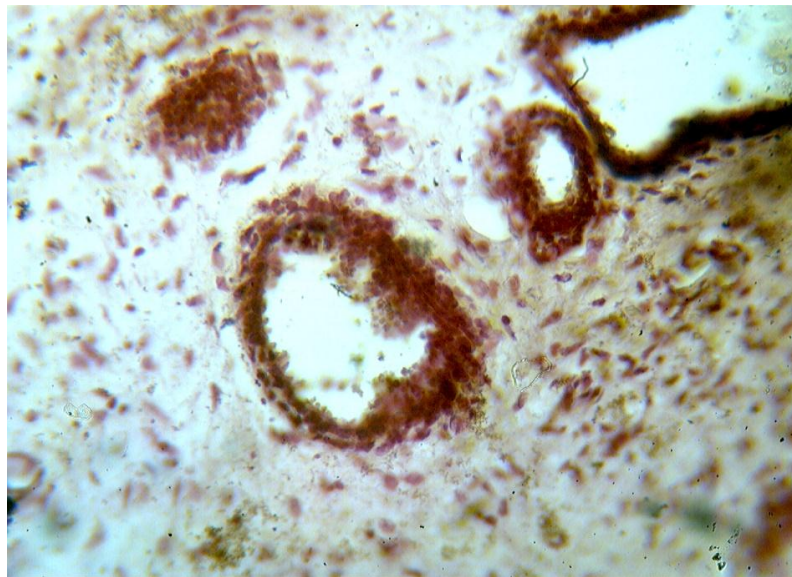


Рис. 4. Больная Б., 48 лет. Экспрессия Ki-67 в пролиферирующем эпителии протоков и альвеол. Ядра окрашены в коричневый цвет. Увеличение 10x40.

В пролиферативных участках с переходом в сосочки обнаружено увеличение экспрессии Ki-67 и вакуолизированного эпителия. А также, увеличение миоэпителия в пролиферативных очагах с апокринной метаплазией.

В строме железы верифицирована соединительная ткань разного типа, иногда склерозированная и фиброзированная, местами с участками гиалиноза, а также с отеком и с миксоматозом. Однако в строме желез ядро клеток окрашивается в обычный фиолетовый цвет, что свидетельствует о том, что в стромальных клетках пролиферативная активность незначительна.

Одним из главных белков - ингибиторов апоптоза является Bcl-2. Он располагается на наружной мембране митохондрий и обнаружен во многих типах нормальных клеток.

При узловой мастопатии сосочковые разрастания внутри расширенных протоков покрыты однорядным или многорядным кубическим эпителием. В некоторых местах эпителий апокринизирован и переходит в просвет протока. При этом в железистой ткани обнаружены очаги экспрессии гена Bcl-2 с коричневой окраской (рис.5).

Онкомаркеры Ki-67 и Bcl-2 клетки различались по трем степеням экспрессии: слабая, умеренная и высокая (табл.11).

При выявлении менее 10% окрашенных клеток в поле зрения оценивалось как слабая экспрессия. Наличие от 10 до 90% окрашенных клеток расценивалось в качестве умеренной

экспрессии. Высокой степенью экспрессии считали наличие более 90% окрашенных клеток в поле зрения.

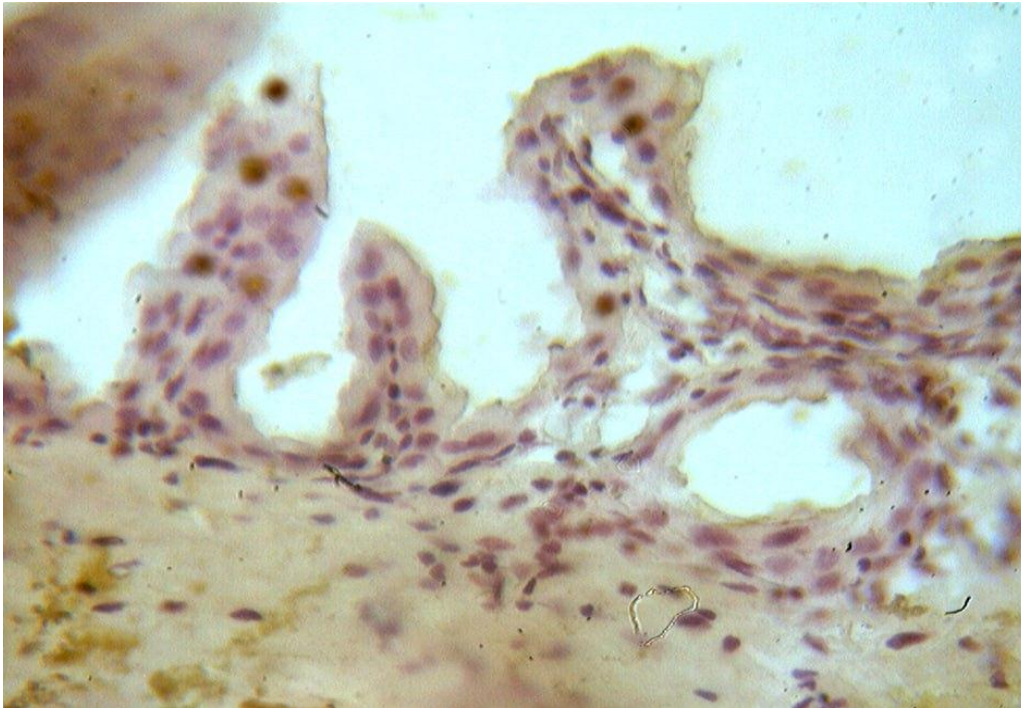


Рис. 5. Больная П., 51 года. Сосочковые разрастания разного вида и величины. Ядра пролиферирующих клеток с экспрессией Bcl-2, окрашенные в коричневый цвет.

Таблица 1. Степень экспрессии Ki-67 и Bcl-2 при узловой мастопатии

Степень экспрессии онкомаркеров	Ki-67, n=28		Bcl-2, n=28	
	абс.	%	абс.	%
Слабоположительная	2	7,1±4,9	4	14,3±6,6
Умеренно положительная	2	7,1±4,9	4	14,3±6,6
Отрицательная экспрессия	24	85,8±6,5	20	71,4±8,5

В исследовании из 4 наблюдений экспрессия Ki-67 была положительной у 2(7,1%) – слабоположительная, еще у 2(7,1%) – умеренно положительная.

Из 8(28,6%) наблюдений слабоположительная экспрессия Bcl-2 верифицирована у 4(14,3%), умеренно положительная выявлена еще у 4(14,3%) пациенток. Как известно, высокая экспрессия Bcl-2 и Ki-67 свидетельствует о наличии высокого риска развития злокачественной опухоли. Ни в одном из наших наблюдений не выявлено высокой экспрессии изученных маркеров.

При этом в срезах 2 пациенток наблюдалось сочетание умеренной экспрессии Bcl-2 и Ki-67, еще у 2 пациенток верифицировано сочетание умеренной экспрессии Bcl-2 и слабой экспрессии Ki-67. У остальных 4 больных с пролиферативной формой мастопатии диагностирована слабая экспрессия Bcl-2. У всех 8 пациенток гистологически отмечена пролиферативная форма мастопатии. Из них у половины – у 4 больных гистологически отмечена выраженная степень пролиферации эпителия, у этих пациенток диагностировано сочетание умеренной экспрессии Bcl-2 и Ki-67.

Выводы. Таким образом, при гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях эпителиального компонента узловой мастопатии выявлено две формы мастопатии - пролиферативная и непролиферативная с развитием разных видов пролиферативных изменений. Так, в железистом эпителии появляются очаги интраканаликулярной пролиферации, и однорядный эпителий превращается в многорядный с появлением разных солидных и криброзных структур. При этом пролиферация эпителия увеличивается при

одновременном отсутствии апоптоза. В последующем в очагах интраканаликулярной пролиферации появляется полиморфизм и рост клеток, нарушается нормальное соотношение к базальной мембране. Присутствие Vcl-2 с умеренной степенью экспрессии в сочетании с Ki-67 у пациенток с узловой формой мастопатии следует рассматривать в качестве маркера прогрессирования пролиферативного процесса и необходимости длительного наблюдения за этими пациентками со стороны маммолога.

Литературы:

1. RI Israilov, BA Sanoev, AZ Olimova Pathologically Undifferentiated Placental Morphology in Primary Placental Insufficiency // American Journal of Medicine and Medical Sciences. Volume: 10 Issue: 09 | 2020. 660-663 p
2. Sanoev Bakhtiyor Abdurasulovich MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF THE PLACENTA IN NORMAL PREGNANCY.// DEVELOPMENT OF A MODERN EDUCATION SYSTEM AND CREATIVE IDEAS FOR IT, REPUBLICAN SCIENTIFIC-PRACTICAL ONLINE CONFERENCE ON "SUGGESTIONS AND SOLUTIONS" Issue: 06 | 2020. 94-96 p
3. Б.А Саноев, Г.Ш Ниёзова, Н.И Хикматова МАКРО-И МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЛЕЙОМИОМ МАТКИ // Новый день в медицине. Номер 2. 2020. С. 526-528
4. Sanoyev Bakhtiyor Abdurasulovich, Olimova Aziza Zokirovna. Pathology of Precancerous Conditions of the Ovaries in Women of Reproductive Age. // Volume: 01 Issue: 06 | 2021.
5. Aziza Zokirovna Olimova, Sanoyev Bakhtiyor Abdurasulovich. OVARIAN DISEASES IN AGE OF REPRODUCTIVE WOMEN: DERMOID CYST. // Volume: 01 Issue: 06 | 2021. 154-161 p
6. Aziza Zokirovna Olimova. Частота Встречаемости Миомы Матки У Женщин В Репродуктивном Возрасте. // JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH AND STABILITY (JARS). Volume: 01 Issue: 06 | 2021. 551-556 p
7. Хикматова Н.И., Пахомова Ж.Е. Клинические показатели индивидуализированных подходов к лечению бесплодия воспалительного генеза // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья. – Ташкент, 2021. - С.19-22.
8. Хикматова Н.И., Пахомова Ж.Е. Ассоциация HLA-DRB1, DQA1 и DQB1 с бесплодием репродуктивных расстройств в Бухарской области Узбекистана // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья. Ташкент. 2022.-С.28-31.
9. Hikmatova N.I. Improving the effectiveness of predicting infertility in women with pelvic inflammatory disease // FIGO 23 world congress of gynecology and obstetrics. - Австралия. Сидней, 2021. - P.10.
10. Olimova N. I. Analysis of the somatic and reproductive history of women with genital inflammatory diseases due to hiv infection //Актуальные вопросы экспериментальной микробиологии: теория. – 2022. – Т. 1. – №. 2. – С. 30.
11. Olimova N. I. The Role Of Immunological Factors In The Pathogenesis Of Hiv Infection In Women Of Reproductive Age With Genital Inflammatory Diseases //Journal of Pharmaceutical Negative Results. – 2022. – С. 2695-2700.