

Метод получения материала для цитологической диагностики рака молочной железы

Н. В. Игнатова, А. В. Важенин, М. В. Шкута

Челябинский областной клинический онкологический диспансер, Южно-Уральский научный центр РАНН, Уральская клиническая база ФГУ, «Российский научный центр рентгенорадиологии» Росздрав, г. Челябинск

Method of reception of a material for cytological diagnostics breast cancer

N. V. Ignatova, A. V. Vazhenin, M. V. Shkuta

The Chelyabinsk regional clinical oncological clinic, the Southern — Ural centre of science of Russian Academy of Medical Science, Ural clinical base FGU, «the Russian centre of science rentgenradiology» Roszdrava

Резюме

Проведен сравнительный анализ результатов цитологического исследования у 146 больных с различными анатомическими формами роста рака молочной железы, с помощью двух различных методов получения опухолевого материала и приготовления цитологических препаратов в случае выявления скудного пунктата. Использовали стандартную пункционную тонкоигольную аспирационную биопсию (ПТАБ) и исследуемый метод с применением трековой мембраны в качестве фильтра для концентрации опухолевых клеток. Установлено, что метод, основанный на применении трековых мембран, позволяет повысить эффективность цитологического исследования при узловой форме роста опухоли с 43,9% до 82,6%, при ограниченно-инфильтративной — с 40,7% до 70,3%, при инфильтративной форме — с 19,0% до 57,1%. Использование мембраны не нарушает анатомическую целостность клеток.

Ключевые слова: цитологическое исследование, концентрация клеток, трековая мембрана.

Summary

The comparative analysis of results of cytological research at 146 patients with various anatomic forms of growth of a breast cancer, with the help of two various methods of reception of a tumor material and preparation of cytological preparations is carried out in case of revealing poor research. Used standard thin-needle biopsy aspiration and a researched method with application of a track membrane as the filter for concentration of tumor cells. It is established, that a method based on application of track membranes, allows to increase efficiency of cytological research at the central form of growth of a tumor from 43,9% up to 82,6%, at limit-infiltrative — from 40,7% up to 70,3%, at infiltrative to the form — from 19,0% up to 57,1%. Use of a membrane does not break anatomic integrity of cells.

Key words: cytological research, concentration of cells, track membrane.

Введение

Морфологическая верификация рака молочной железы до начала лечения необходима не только для разрешения диагностических сомнений. Это имеет еще и юридический смысл. С учетом серьезности последствий и ошибок лечения, калечащего характера операции, диагностика рака молочной железы (РМЖ) требует исключения вероятности ошибочного диагноза (1, 2).

Используемое для этой цели цитологическое исследование обладает безопасностью, малой травматичностью ткани опухоли при получении материала, простотой и быстротой проведения методики, сравнительной дешевизной получения важной диагностической информации. Именно этим при обследовании

больных объясняется широкое применение метода пункционной тонкоигольной аспирационной биопсии (ПТАБ) в условиях поликлиники (3).

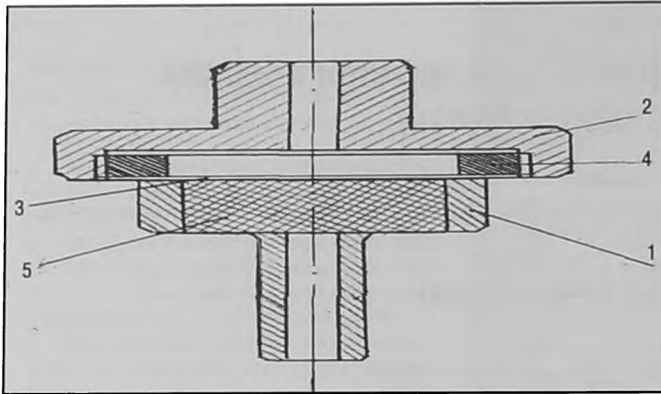
Достоверность цитологической диагностики РМЖ одна из самых высоких в цитологии и составляет по данным литературы 71,9% — 91,5%. Причины неудач заключаются в плохом качестве цитологических препаратов и малом количестве клеточных элементов в них (4, 5, 6, 7).

С целью оптимизации качества получения цитологических препаратов мы остановились на используемом в Центре гигиены и эпидемиологии Челябинской области методе исследования питьевой воды и воды плавательных бассейнов на наличие патогенных микроорганизмов. Данный метод предполагает использование «Устройства для подготовки проб воды» (УППВ) с целью фильтрации исследуемого

Н. В. Игнатова — заслуженный врач России;

А. В. Важенин — член-корреспондент РАНН, Заслуженный врач России.

Рисунок 1. Устройство для подготовки проб воды (УППВ), схема в разрезе



Примечание. 1. Устройство для подготовки проб воды УППВ, схема в разрезе. 2. Крышка. 3. Мембранный фильтр. 4. Уплотнительная шайба. 5. Пористая прокладка (фритта).

материала через прозрачные трековые мембраны (ТМ). Этот метод позволяет максимально концентрировать клеточный материал, избегать разрушения структуры исследуемого субстрата. Было предложено использовать данный метод при заборе материала для цитологического исследования пунктатов из опухолей молочной железы.

Нами было предположено, что повышение концентрации клеточных элементов на предметном стекле позволит оптимизировать возможности врача-цитолога при исследовании цитологического препарата.

Материалы и методы

Объектом исследования явились 146 пациентов, находившиеся на лечении в ГЛПУ «Челябинский областной онкологический диспансер» в 2002-2006 годах с диагнозом рак молочной железы. Всем больным было проведено клиническое и инструментальное обследование, включающее УЗИ молочных желез, маммографию и цитологическое исследование материала, полученного с помощью ПТАБ. Из 146 больных раком молочной железы у 98(67,1%) была установлена узловая форма роста опухоли, у 21(14,4%) — инфильтративная форма, у 27(18,5%) — ограничено-инфильтративная форма.

Существенной особенностью настоящей работы следует считать то, что в данной работе не было необходимости включать в исследование контрольную группу больных. Так, для оценки эффективности экстраполированной оригинальной методики цитологического исследования мы воспользовались представленной возможностью исследовать один и тот же опу-

холевый материал, полученный у одних и тех же больных, с использованием двух различных методик забора материала и приготовления цитологических препаратов. Нам представляется, что данный принцип построения исследования значительно повышает достоверность полученных данных.

При проведении исследования использовали «Устройство для подготовки проб воды», (автор — Рабинович Б. Е., а.с. SU 1370493 А-1 от 1.10.1987 г.), которое прошло испытания в Федеральном Центре Госсанэпиднадзора и было рекомендовано для исследования биологических сред на наличие патогенных простейших и яиц гельминтов, что подтверждено письмом №16ФЦ/2415 от 06.09.1999 г. На сегодня устройство выпускается серийно (ТУ 9479-001- 4247109).

В качестве мембранного фильтра применяли полимерную трековую мембрану — прозрачную пористую пленку из лавсана (полиэтилентерефталата) с порами диаметром 3,5 мкм. Использовались мембраны, изготовленные в виде диска диаметром 25 мм. Указанная пленка — ядерный фильтр, получаемый на циклотроне У-400 ЛЯР ОИЯИ, выпускается ЗАО «Ретрек» (г. Обнинск).

Данные мембраны использовались в качестве фильтров УППВ для исследования паразитарных патогенных простейших.

Устройство УППВ (рис. 1) состоит из пластмассового корпуса 1 и крышки 2; пористого мембранного фильтра — трековой мембраны — 3, фиксируемого к корпусу уплотнительной резиновой шайбой 4; пористой прокладки 5, находящейся внутри корпуса.

Аппарат к применению готовили следующим образом: корпус и крышку разъединяли, уплотнительная шайбу убирали, и мембранный фильтр с размером пор 3,5 мкм (трековая мембрана) помещали на пористую пластинку, затем поверх мембраны ставили уплотнительную шайбу, и корпус свинчивали с крышкой (рис. 2, см. цв. вкладку). Аппарат УППВ в собранном виде «насаживается» на шприц отверстием в крышке. В таком виде он готов к употреблению.

Техника проведения ПТАБ при опухолях молочной железы.

ПТАБ с использованием предлагаемого метода выполнялась нами следующим образом:

1. Обрабатывали место пункции спиртом.
2. Образование фиксировали между пальцами не основной руки.

3. Вводили иглу в образование; при этом обращали внимание на его консистенцию (твердая, мягкая, эластичная, плотная).

4. Создавая разрежение в шприце с помощью поршня, проводили аспирацию, осторожно продвигая иглу в разных направлениях через ткань образования, чтобы получить материал из разных его участков.

5. Удаляли шприц с иглой и прижимали место пункции спиртовым шариком.

6. С помощью поршня «выдували» из шприца и иглы полученный материал на предметное стекло (стекло-1).

7. После чего проводили визуальную оценку количества полученного материала на предметном стекле. В случае получения скудного пунктата — так называемого, «сухого стекла», использовали трековую мембрану для забора осевшего на стенках иглы и шприца клеточного материала.

8. Через пункционную иглу в шприц набирали 5-10 мл физиологического раствора (0,9% хлористого натрия) для «смывания» всего клеточного материала с внутренней поверхности иглы и ее канюли, со стенок шприца.

9. Снимали иглу со шприца и содержимое шприца пропускали через подготовленный для использования аппарат УППВ.

10. Извлеченную пинцетом мембрану помещали на предметное стекло (стекло-2).

11. Окрашивали и проводили прямое микроскопирование обоих предметных стекол в условиях цитологической лаборатории.

Традиционный метод забора материала для цитологического исследования включает в себя только 6 первых этапов. Метод забора клеточного материала с использованием клеточной мембраны включает дополнительно 7-11 этапы. По окончании забора материала аппарат в разобранном виде (корпус, крышка и уплотнительная шайба) подвергали промыванию проточной водой и обработке 3% раствором хлорамина в течение 1 часа.

Результаты

Для оценки эффективности исследуемого метода получения цитологических препаратов,

сравнили результаты цитологического исследования одного и того же материала, полученного нами с использованием двух методов: стандартного и с применением трековой мембраны. За основу взяли цитологическое заключение, как показатель качества и эффективности всего цитологического исследования.

В зависимости от результата, все заключения были разделены нами на «положительные» и «отрицательные». Положительным заключение считалось только при наличии убедительных данных за злокачественную опухоль: «картина рака», «аденокарцинома». Отрицательным считалось цитологическое заключение: «неинформативный материал», «мало материала», «подозрение на рак».

Было исследовано 292 цитологических препарата, приготовленных из материала, полученного у 146 больных. Сравнительный статистический анализ результатов, полученных с использованием стандартного метода ПТАБ и метода с использованием трековой мембраны, проводили с помощью непараметрических критериев Фишера (критерии сравнения процентных долей).

Анализируя результаты цитологического исследования материала, полученного из одного и того же опухолевого узла с использованием двух методик в группе 98 больных с узловой формой роста опухоли, нами выделены несколько вариантов заключений:

- у 38 пациенток при исследовании материала и на предметном стекле и на трековой мембране получено заключение «рак»;
- у 43 — заключение «рак» получено только при исследовании материала на мембране;
- у 5 — заключение «рак» получено только при исследовании материала на стекле;
- у 12 больных ни на стекле, ни на мембране не получено положительного заключения.

Обращает на себя внимание наибольшая группа (43 больных), у которых положительное цитологическое заключение получено только на мембране, т.е. после смыва клеточного материала. Таким образом (табл. 1), по-

Таблица 1. Анализ эффективности использования методов получения цитологического материала у больных с узловой формой роста РМЖ

Параметры исследования	Процентные доли (количество больных с узловой формой роста РМЖ)		Значение коэффициента Фишера (Ф ЭМП)	Значимость различий (уровень значимости)
	стандартный метод	метод ТМ		
Количество положительных заключений	43,9% (43)	82,6% (81)	5,81	Различия значимы (p < 0,01)
Количество отрицательных заключений	56,1% (55)	17,3% (17)	5,81	
% подтверждения диагноза	43,9%	82,6%	5,81	

Таблица 2. Анализ эффективности использования методов получения цитологического материала у больных с отграничено-инфильтративной формой роста РМЖ

Параметры исследования	Процентные доли (колич. больных с отгр.-инфильтр. формой роста РМЖ)		Значения коэффициентов Фишера (φ эмп)	Значимость различий (уровень значимости)
	стандартный метод	метод ТМ		
Количество положительных заключений	11	19	2,24	Различия значимы (p < 0,05)
Количество отрицательных заключений	16	12	2,24	
% подтверждения диагноза	40,7%	70,3%	2,24	

Таблица 3. Анализ эффективности использования методов получения цитологического материала у больных с инфильтративной формой роста РМЖ

Параметры исследования	Процентные доли (колич. больных с инфильтративн. формой роста РМЖ)		Значения коэффициентов Фишера (φ эмп)	Значимость различий (уровень значимости)
	стандартный метод	метод ТМ		
Количество положительных заключений	19,0% (4)	57,1% (12)	2,56	Различия значимы (p < 0,01)
Количество отрицательных заключений	81,0% (17)	42,9% (9)	2,56	
% подтверждения диагноза	19,0%	57,1%	2,56	

ложительное заключение с использованием фильтра получено у 81 больной (82,6%), а при исследовании материала с использованием стандартной методики положительное цитологическое заключение — у 42 больных (43,9% наблюдений).

У 27 больных с отграниченно-инфильтративной формой роста опухоли были получены следующие варианты цитологических заключений: у 7 больных при исследовании препаратов, приготовленных с использованием обеих методик, получено положительное заключение; у 12 пациенток положительное заключение получено только при микроскопировании материала на мембране; у 4 больных положительное цитологическое заключение получено только при использовании стандартной методики, у 4 больных не получено положительного заключения.

Таким образом (табл. 2), цитологически рак доказан у 19 больных с использованием трековой мембраны (70,3%). При использовании стандартной методики рак верифицирован у 11 больных (40,7%).

В группе 21 больной с инфильтративной формой роста опухоли варианты цитологических заключений были следующими: у 4 больных в препаратах, приготовленных с помощью обеих методик, получен положительный результат; у 8 больных положительное заключение — только при исследовании материала на мембране, у остальных 9 пациенток результат был отрицательный в обоих случаях.

Таким образом (табл. 3), при использовании мембраны рак верифицирован был у 12

больных из 21, т.е. в 57,1% случаев. С использованием стандартной методики диагноз подтвержден только у 4 больных, т.е. в 19,0% случаев.

Выводы

1. Метод ПТАБ с использованием ТМ технически прост, эффективен, доступен для использования в поликлинических условиях.
2. Диагностические возможности ПТАБ с ТМ за счет концентрации клеточного материала превышают стандартные методики:
 - при узловой форме — РМЖ 82,7% против 43,9%;
 - при отграничено-инфильтративной форме — 70,3% против 40,7%;
 - при диффузно-инфильтративной форме — 57,1% против 19,0%.

Литература

1. Дымарский Л. Ю. Рак молочной железы. Библиотека практического врача. М: Медицина; 1980.
2. Donegan W. L. Evaluation of a palpable breast mass. Engl J Med 1992; 327:937-92.
3. А. В. Хайленко, Д. В. Комова, В. Н. Богатырева. Клиническое обследование и методы диагностики рака молочной железы. М; 2005.
4. Волченко Н. Н. Цитологическая диагностика опухолей молочной железы. Маммология 2006; 1:35-39.
5. Зотов А. С., Велик Е. О. Мастопатии и рак молочной железы. Краткое руководство. 4-е издание, дополненное. М: Медицина; 2005.
6. Пучков Ю. Г., Новик В. И., Липова В. А. Цитоморфологическая диагностика. В: Напалков Н. П. (ред.) Вопросы онкологии: руководство для врачей. Ленинград: Медицина; 1989; 410-417.
7. Layfield L. J., Glasgow B. J., Cramer H. Fine-needle aspiration in the management of breast masses. Pathol Annu 1989; 24:23-62.

Рисунок. Бронхоалоальвеолярный рак и высокодифференцированные железистые опухоли легких:

- а) БАР-1, пневмониеподобная форма, комбинированная окраска пикрофуксином и фукселином, $\times 200$;
- б) БАР-2, окраска гематоксилин и эозин, $\times 200$;
- в) БАР-3, окраска гематоксилин и эозин, $\times 200$;
- г) Тот же случай, иммуногистохимическое исследование с TTF-1, ядерная реакция, $\times 400$;
- д) Метастаз высокодифференцированной кишечной аденокарциномы, окраска гематоксилин и эозин, $\times 400$;
- е) ИФА с атипической аденоматозной гиперплазией альвеолярного эпителия, окраска гематоксилин и эозин, $\times 400$.

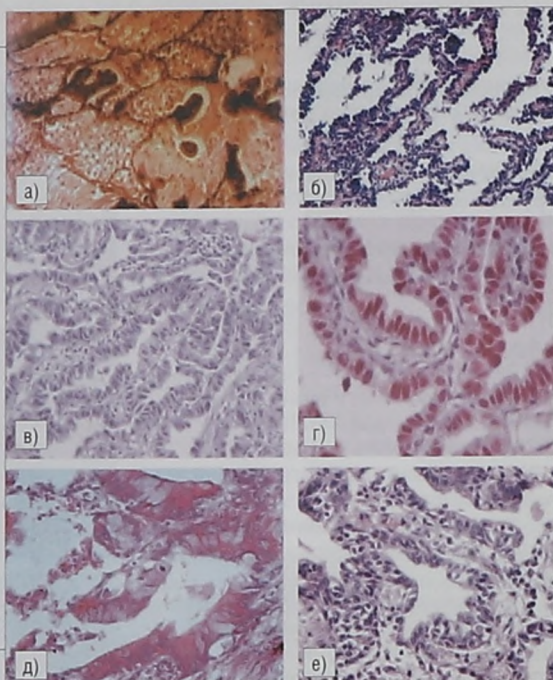


Рисунок к статье Н. В. Игнатовой, А. В. Важенина и М. В. Шкуты
 «Метод получения материала для цитологической диагностики рака молочной железы», стр. 57.

Рисунок 2. Вид аппарата УППВ в разобранном состоянии



Рисунки к статье С. С. Веденской, М. П. Груздева и Н. Б. Крохиной
 «Характеристика патоморфологических изменений печени у больных хроническим вирусным гепатитом С молодого возраста с различными генотипами HCV», стр. 61.

Рисунок 1. Хронический вирусный гепатит С, 3а генотип вируса. Диффузная крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, скопления лимфоцитов в синусоидах в виде «цепочек». Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Рисунок 2. Хронический вирусный гепатит С, 1b генотип вируса. Проплиферация внутрипеченочных желчных протоков в портальном тракте и перипортальной зоне. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Рисунок 3. Хронический вирусный гепатит С, 3а генотип вируса. Лимфогистиоцитарная инфильтрация портальной и внутридольковой стромы и формирующейся центрально-портальной септы. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону $\times 200$

