
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Новичков Е.В., 2014
УДК 618.11-006.6-091

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА РЕЦИДИВИРОВАНИЯ МУЦИНОЗНЫХ КАРЦИНОМ ЯИЧНИКОВ

Е.В. НОВИЧКОВ

Кировская государственная медицинская академия, г. Киров

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND CRITERIA FOR PREDICTION OF RECURRENCE MUCINOUS OVARIAN CARCINOMAS

Ye.V. NOVICHKOV

Kirov State Medical Academy, Kirov

На материале 72 больных изучена морфометрическая и фотометрическая характеристика муцинозных опухолей овариального рака с высоким риском возобновления опухолевого роста в сопоставлении с неоплазмами этой локализации без рецидива. Установлено, что рецидивирующие муцинозные карциномы яичника при сопоставлении с неоплазмами этого органа без повторного ракового роста имеют большие размеры клеток, ядер и ядерно-клеточное соотношение. Выявлено, что в рецидивирующих овариальных неоплазмах муцинозного гистотипа показатель васкуляризации выше. Зарегистрированный факт позволяет судить о высокой скорости неоангиогенеза в муцинозных карциномах, склонных к повторному росту и рассматривать этот показатель при комплексной оценке злокачественного потенциала опухоли.

Ключевые слова: муцинозный рак яичников, прогноз, рецидивирование, патоморфологическая характеристика.

On a material of 72 patients it is studied morphometrical and the photometrical characteristic ovarian carcinoma a cancer with high risk of renewal of tumoral growth in comparison to neoplasmas of this localisation without relapse. It is established, that relapse mucinosis ovarian carcinoma by comparison to neoplasmas of this body without repeated cancer growth have the big sizes of cages, kernels and a nuclear-cellular relations. It is revealed, that in relapse mucinosis ovarian neoplasmas an indicator vaskularisation above. The registered fact allows to judge about high speed angiogenesis in mucinosis ovarian carcinoma, inclined to repeated growth and to consider this indicator at a complex estimation of malignant potential of a tumor.

Keywords: mucinous ovarian cancer, prognosis, relapse, pathomorphology.

Введение

В структуре заболеваемости раком женских гениталий злокачественные опухоли яичников во многих странах мира стабильно занимают второе место после рака шейки матки и первое – по показателям смертности [5]. Ежегодно в мире регистрируется 166 тысяч злокачественных новообразований яичников и 101 тысяча смертей от них, в России – 11,7 тыс. и 7,3 тыс. соответственно [3]. Одной из основных задач предпринятого изыскания стало выделение прогностически значимых морфологических признаков первичных рецидивирующих карцином яичника [7].

Вся сложность проблемы рака яичников заключается в особенностях этиологии и патогенеза опухолей этого органа, в уникальности самой эндокринной природы яичника и его роли в жизнедеятельности женского организма. В клинических рекомендациях по лечению распространенного рака

яичников [7] в настоящее время нет факторов, которые могли бы быть однозначно использованы при выборе специфической терапии. По заключению Р.В. Орловой (2000), формирование стандартов лечения карцином яичника представляется крайне затруднительным для клиницистов, поскольку в большинстве случаев формулировка минимальных стандартов лечения проводится с учетом, в основном, клинических факторов прогноза без сопоставления их с биологической особенностью рака этой локализации [4]. Последний факт обуславливает снижение эффекта от проводимой комбинированной терапии и способствует развитию рецидивов. Термин «рецидив», используемый в отношении опухолей яичников, – условный, так как, по существу, речь идет не о рецидиве, а о возобновлении прогрессирования первичных очагов и дальнейшем клиническом проявлении роста метастазов,

преимущественно имплантационных, не удаленных при радикальной операции или возникших вновь. Между тем рецидивирование является наиболее сложным и недостаточно изученным разделом онкогинекологии. Все больше внимание отечественных и зарубежных ученых привлекает использование иммуногистохимии для исследования биологического поведения опухоли и определения ответа неоплазмы на тот или иной вид лечения, а соответственно и предсказания прогноза заболевания [5, 7]. Поэтому всеми признается, что в XXI в. основные усилия должны быть направлены на изучение теоретических, диагностических, клинических, лечебных и прогностических аспектов возобновления опухолевого роста, что особенно актуально в отношении рака [7].

Цель исследования

Морфометрическая и фотометрическая характеристика муцинозных опухолей овариального рака с высоким риском возобновления опухолевого роста в сопоставлении с неоплазмами этой локализации без рецидива и критерии прогноза рецидивирования муцинозных карцином яичников.

Материалы и методы

Для морфометрической характеристики опухолевых клеток использовались системы анализа цифрового изображения Quantimet 500 C+ QWin

(Leica Cambridge Ltd., 1998) и AxioVision 3.0 (Carl Zeiss GmbH, 2001). Цифровое изображение для анализа получали с микроскопа Leica REICHERT POLIVAR 2 с план-объективом FI APO 40x/0,30, совмещённого с цифровой видеокамерой JVC разрешением 800 x 600 pixel. В автоматическом режиме («Measure Feature») вычислялись следующие морфометрические показатели: площадь, периметр и коэффициент формы раковых клеток; площадь, периметр, коэффициент овальности и эквивалентный диаметр их ядер; ядерно-клеточное соотношение. С целью обеспечения высокой точности измерение гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, выполняли в 5 произвольных полях зрения.

Для анализа количества нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в ядрах и цитоплазме клеток муцинозных неоплазм яичника. У всех 72 больных ставилась реакция Браше. Использовалась система фотометрического анализа MpvBio (Leica GmbH, 1998), совмещённая с микроскопом Leica Leitz DMRX со спектральным анализатором Leica MPV-SP. Строго учитывали требования к сравнительной гистоспектрофотометрии: стандартная толщина гистологических срезов (5 мкм), предметных и покровных стёкол; одновременная окраска всех сравниваемых срезов; одинаковые для всех измерений условия освещения и пороги яркости измеряемых объектов [6].

Фотометрирование ДНК и РНК осуществлялось в 1000 опухолевых клеток при увеличении гистологического препарата в 900 раз. Измерение проводилось в режиме «2-lambda method» для длины волны 500 и 650 нм видимого спектра с определением коэффициентов поглощения («Absorbance») и пропускания («Transmittance») монохроматического света. Содержание нуклеиновых кислот высчитывалось в условных единицах оптической плотности (у.е.) и равнялось коэффициенту поглощения длины волны 500 нм для РНК и 650 нм для ДНК. Подразделение рибонуклеиновой кислоты на виды нами не учитывалось. В последующем определялись взаимосвязи между содержанием хроматина в ядрах, количеством РНК в цитоплазме раковых клеток и развитием рецидива онкологического заболевания.

Плоидометрию опухолевых клеток рака женских гонад осуществляли при окраске микропрепаратов по методу Фельгена посредством компьютерного анализатора изображений Quantimet 500 C+ QWin (Leica Cambridge Ltd., 1998), совмещённого с микроскопом Leica REICHERT POLIVAR 2 с план-объективом FI APO 40x/0,30 на монохроматическом светофильтре длиной волны 570 нм. В автоматическом режиме (Mesure Feature) измеряли интегральную яркость окрашенных ядер эпителиальных клеток. Для получения «тканевого

стандарта плоидности» [6] в тех же гистологических срезах определяли среднюю интегральную яркость ядер малых лимфоцитов, которая соответствует параплоидному набору хромосом (2c). Среднюю интегральную яркость ядер измеряли в 396 малых лимфоцитах. Вычисляя плоидность ядер исследуемых эпителиальных клеток рака яичников в единицах «с», средние показатели интегральной яркости ядер делили на половину указанного тканевого стандарта [1, 2].

Митотический режим опухолевых клеток у 72 больных муцинозным раком яичника был проанализирован в гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по Фельгену. Митотическая активность (индекс) определялась путем подсчета 1000 опухолевых клеток при увеличении микрообъекта в 900 раз. Долю различных форм патологии митоза вычисляли в процентах к общему числу митозов [4]. В каждом наблюдении исследовалось общее количество митозов и общее количество патологических митозов. Подсчитывалось отношение метафаз к профазам – «метафазно-профазный индекс». В дальнейшем, при рассмотрении различных видов патологических митозов с целью изучения клеточного атипизма мы объединили наиболее часто встречающиеся типы патологических митозов в 2 категории: митозы, обуславливающие анеуплоидию опухоле-

вых клеток (отставание хромосом в мета-, ана- и телофазе, многополюсные и асимметричные митозы, трёхгрупповая метафаза) и «летальные» – приводящие к гибели клетки (рассеивание хромосом в метафазе, мосты, поля метафаза, К-митоз).

Для изучения прогностического значения составляющих стромы осуществлена квантиметрия гистологических срезов толщиной 5 мкм, окрашенных пикрофуксином по методу ван Гизон, а также мерёбром по методу Фута, в 10 произвольных полях зрения на микроскопе Leica REICHERT POLIVAR 2 с план-объективом FI APO 10x/0,30, совмещённом с цифровой видеокамерой JVC разрешением 800 x 600 pixel, при помощи системы анализа цифрового изображения Quantimet 500 C+ QWin (Leica Cambridge Ltd., 1998). В автоматическом режиме («Measure Field» и «Measure Feature») были зафиксированы следующие показатели: объёмные доли паренхимы, стромы и некроза, количество, площадь и коэффициент округлости опухолевых сосудов; удельная доля отёка; степень зрелости и деградации коллагена; площадь, периметр, эквивалентный диаметр ядер и количество свободных клеток стромы.

Применяли непараметрические статистические методы. Для анализа значимости различий между двумя независимыми параметрами использовали U-критерий Манна-Уитни, между

несколькими группами – H-критерий Крускала-Уоллиса. Достоверность различий между двумя связанными переменными устанавливали непараметрическим методом Уилкоксона, между несколькими – методом Фридмана. Значимости между признаками оценивали по коэффициенту корреляции (r), его ошибки (m) и уровню значимости (p), которые высчитывали с помощью метода ранговой корреляции Спирмена. Значимость считали сильной при $[r] \geq 0,7$; средней при $0,5 \leq [r] < 0,7$; умеренной при $0,3 \leq [r] < 0,5$; слабой при $0,2 \leq [r] < 0,3$ и очень слабой при $[r] < 0,2$.

Результаты и их обсуждение

Перед их непосредственным изучением операционно-биопсийный материал (72 больных) был разделен нами на 2 группы:

1. пациенты с диагнозом муцинозный рак яичников, у которых верифицировано возобновление опухолевого роста после проведённого радикального лечения (14 наблюдений);
2. больные злокачественными эпителиальными новообразованиями гонад муцинозного гистогенеза без рецидива (58 случаев).

Среди первичного муцинозного рака яичников, в соответствии с преобладанием отдельных гистологических структур, определяли неоплазмы папиллярного, тубулярного и солидного строения. У пациенток первой группы новообразования с

преобладанием сосочковых структур встречались в 12 (85,7%) случаях, карциномы тубулярного строения наблюдались у 1 (7,15%) больных, солидного – у 1 (7,15%). В группе рецидивирующих карцином гистологический профиль несколько иной: папиллярный вариант опухоли диагностировался у 26 (44,8%), тубулярный у 10 (17,3%), солидный у 22 (37,9%) пациенток.

Гистологически в рецидивирующих муцинозных карциномах папиллярного строения сосочковые структуры преобладали и сочетались с единичными железами. Ворсины покрыты цилиндрическим эпителием с умеренно выраженным полиморфизмом. Отчётливо видны явления пролиферации с формированием многорядного пласта в виде микрососочков чисто эпителиального состава (без стромы). Многорядный эпителий с крупными овальными ядрами, наслаивающимися друг на друга. Хорошо заметны ядрышки, митозы диагностируются часто с преобладанием «анеуплоидных» форм. Строма характеризовалась узкими соединительно тканевыми тяжами, содержащими капилляры и незначительное количество крупных клеток (фибробласты, макрофаги).

Железистый вариант рецидивирующего рака яичников построен из тубулярных структур, сформированных опухолевыми клетками, варьирующими по размерам и форме от

мелких уплощённых с вытянутыми ядрами, до крупных цилиндрических с гомогенной розовой цитоплазмой и резко увеличенными овальными ядрами. Опухолевые железы разделены хорошо выраженной фиброзированной стромой. Здесь встречаются очаги сходные по строению с анапластическим раком и представлены полиморфными клетками с крупными, гиперхромными и/или пузырьковидными ядрами, ядерно-клеточное отношение в этих очагах очень высокое. Сосуды в опухолевом узле резко расширены, полнокровные, зачастую с явлениями диапедезных кровоизлияний. Некротические очаги в опухолевом узле единичны.

Рецидивирующий муцинозный рак женских гонад низкой степени гистологической дифференцировки представлен тубулярными структурами, в просвете которых часто встречаются солидные пласты. Клетки, формирующие паренхиму опухоли крупные с крупным вытянутым ядром, занимающим большую часть цитоплазмы. Проллиферативная активность новообразования характеризуется преобладанием патологических фигур деления, из которых большинство «анеуплоидных». Строма, разделяющая железистые структуры компактная, фиброзированная с хорошо развитым сосудистым компонентом. Из преобладающих свободных клеток стромы можно отметить клетки

фибропластического ряда и гистиоцитарного происхождения. Спонтанные некрозы в неопластическом узле диагностируются редко.

Оценив морфометрические параметры неопластической клетки изучаемых групп карцином яичников, статистически достоверно большие размеры установлены в новообразованиях с возобновлением опухолевого роста в сравнении с безрецидивным муцинозным овариальным раком ($95,8 \pm 7,49$ мкм² против $88,4 \pm 4,93$ мкм², $p = 0,038$). Клеточные ядра муцинозных карцином яичников с рецидивом и без рецидива достоверно отличаются по площади ($40,4 \pm 6,29$ мкм и $37,6 \pm 5,38$ мкм соответственно, $0,048$). Одновременно, нам не удалось выявить статистически значимых отличий периметра, эквивалентного диаметра и коэффициента овальности ядер в тестируемых группах. В нашем исследовании для рецидивирующих муцинозных новообразований женских гонад ЯКО составило $0,46 \pm 0,121$, в то время как в безрецидивных неоплазмах этот коэффициент был $0,44 \pm 0,114$ ($p = 0,06$). Однако среди групп карцином достоверных различий в зависимости от возобновления ракового роста в ядерно-клеточном соотношении не выявлено.

Резюмируя вышеизложенное, уместно констатировать, что увеличение площади опухолевой клетки значимо повышает риск развития рецидива в муцинозных аденокарциномах

как высокой, так умеренной и низкой степени гистологической дифференцировки.

Муцинозные карциномы яичников с высоким риском развития рецидива отличаются большим содержанием РНК в ядрах опухолевых клеток ($0,13 \pm 0,024$ у.е. против $0,11 \pm 0,027$ у.е.), однако, эта разница не имеет статистической достоверности ($p = 0,148$). Также нам не удалось выявить различий в оптической плотности ядра в карциномах исследуемых групп.

Выявлено, что средняя плоидность ядер клеток муцинозной карциномы яичника с высоким риском развития рецидива достоверно ($p = 0,046$) отличается от показателей, характеризующих безрецидивный рак женских гонад. Так, у первых показатель плоидности составил $4,5 \pm 0,13$ с, что было значимо выше, чем при нерецидивирующем раке ($4,2 \pm 0,09$ с). Полученные сведения убеждают, что для злокачественных муцинозных неоплазм яичника специфичны значения плоидности, превышающие паратетраплоидный набор. Одновременно, новообразования с возобновлением опухолевого роста показывают максимальные значения плоидности, что свидетельствует о выраженной пролиферации и нарастании ядерного атипизма в них.

Минимальное среднее значение митотического индекса регистрировалось в новообразованиях с высоким

риском развития рецидива $5,8 \pm 2,21^{0/00}$ против $5,1 \pm 1,78^{0/00}$ в безрецидивных, однако, эта разница не имеет статистической достоверности ($p=0,065$), а также значимо высокий профазно-метафазный индекс в сравнении с нерецидивирующими неоплазмами ($1,43 \pm 0,142$ против $0,78 \pm 0,110$ соответственно, $p=0,048$). Одновременно с этим выявляются недостоверно ($p = 0,067$) более высокие значения удельной доли патологических митозов ($24,1 \pm 8,45\%$) в цитоплазме клеток новообразований без возобновления опухолевого роста, в то время как в клетках карцином женских гонад с рецидивом этот показатель более низкий ($18,3 \pm 3,24\%$).

Анализ характеристик пролиферативной активности рецидивирующих новообразований яичников позволил прийти к заключению, что рано рецидивирующие карциномы и неоплазмы с поздним рецидивом показывают статистически значимые отличия в количественных и качественных характеристиках митотического режима. Так, поздно рецидивирующие муцинозные злокачественные новообразования яичника характеризуются значимо большим показателем митотического индекса ($6,5 \pm 2,10^{0/00}$ против $4,7 \pm 2,31^{0/00}$, $p=0,032$) и более высоким показателем профазно-метафазного индекса в сравнении с раком, рано дающим повторный рост ($1,11 \pm 0,26$ против $0,42$

$\pm 0,045$, $p = 0,020$). В то же время, рано рецидивирующие карциномы характеризуются большей удельной долей патологических митозов в опухолевом узле. Опухолевые клетки карцином с ранними рецидивами обладают значимо большей удельной долей анеуплоидных патологических митозов в сравнении с безрецидивным раком и поздно рецидивирующими карциномами ($p = 0,028$ и $0,031$ соответственно).

Исследуя параметры пролиферативной активности в злокачественных эпителиальных новообразованиях яичников муцинозного гистотипа с возобновлением опухолевого роста позже 6 месяцев и в карциномах без рецидива констатирована статистически достоверно большая удельная доля «летальных» форм патологических митозов ($p = 0,007$) у вторых. Аналогичная картина представлялась при сопоставлении фигур митозов внутри всех трёх категорий, то есть раковые клетки значимо отличались по соотношения анеуплоидных и «летальных» форм митоза в зависимости от срока наступления рецидива ($p = 0,004$).

Объемная доля стромы в злокачественных эпителиальных новообразованиях яичника муцинозного типа с возобновлением опухолевого роста достоверно меньше ($21,0 \pm 3,62\%$), чем в опухолях без рецидива ($40,5 \pm 8,81\%$), $p = 0,006$. Объем паренхиматозного компонента в обеих наблюдаемых группах также различа-

лись значимо, этот показатель выше в группе рецидивирующих муцинозных карцином женских гонад (74,9% против 56,0% соответственно, $p = 0,035$).

Диагностировано, что в опухолевом узле муцинозного овариального рака количество сосудов составляет в среднем $4,7 \pm 3,31$ шт./10000 мкм^2 , при этом средняя площадь поперечного сечения сосуда равна $96,7 \pm 44,05$ мкм^2 . В свою очередь, рецидивирующие злокачественные муцинозные новообразования яичников в сравнении с безрецидивными отличаются значимо большим количеством сосудов ($5,4$ против $4,6$ на 10000 мкм^2 соответственно, $p = 0,0049$) и увеличением плотности васкуляризации опухоли ($53,1$ мкм^2 против $44,3$ мкм^2 на 1000 мкм^2 площади стромы) при этом средняя площадь поперечного сечения сосудов в сравниваемых новообразованиях была одинаковой.

Оценивая средний показатель площади отёка в неопластическом узле муцинозных новообразований, мы установили значение $14,9 \pm 6,24\%$ от общей площади стромального компонента. Выраженность отёка стромы в карциномах без рецидива не превышала $14,8 \pm 0,35\%$ от объёма стромы неоплазмы, а в рецидивирующих неоплазмах яичника этот показатель достигал $15,9 \pm 2,18\%$, $p=0,05$. Зарегистрированный факт позволяет судить о высокой скорости неоангиогенеза в муцинозных карциномах, склонных к

повторному росту и рассматривать этот показатель при комплексной оценке злокачественного потенциала опухоли.

Стромальные клетки рецидивирующих овариальных карцином отличаются несколько большими площадью и овальностью ядра ($23,0$ мкм^2 и $2,04$ соответственно), что свидетельствует о преобладании крупных клеток гистиогенного происхождения (фибробласты, фиброциты), в то время как в опухолевом узле нерцидивирующих новообразований отмечается более выраженная инфильтрация гематогенными мелкоклеточными элементами ($22,6$ мкм^2 и $1,95$ соответственно, $p = 0,067$; $0,045$).

Подводя итог, можно констатировать, что в группе рецидивирующих муцинозных овариальных карцином прослеживается прямая сильная зависимость срока наступления рецидива от количества свободных клеток на единицу площади стромы (коэффициент корреляции $r = 0,654$, $p = 0,024$), а также от количества сосудов в строме ($r = -0,751$, $p = 0,04$). Это поможет при прогнозе рецидива у пациенток со злокачественными неоплазмами женских гонад.

Выводы

Рецидивирующие муцинозные карциномы яичников отличаются характерными патогистологическими, морфометрическими, фотометрическими параметрами паренхиматозного и

стромального компонентов. В настоящее время необходимо учитывать патогистологические критерии первичной опухоли при прогнозе рецидива муцинозного рака женских гонад.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – М., 2002. – 240 с.
2. Автандилов Г.Г. Оценка пролиферативной активности клеток в гистопатологической диагностике / Г.Г. Автандилов [и др.] // Тихоокеанский мед. журн. – 2000. – №4. – С. 9-11.
3. Аксель Е.М. Статистика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в 2000 году / Е.М. Аксель, М.И. Давыдов // Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000 г. – М., 2002. – С. 85-106.
4. Алов А.И. Морфологические и прикладные аспекты патологии митоза / А.И. Алов // Архив патологии. – 1975. – № 12. – С. 3-14.
5. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных / В.Л. Винокуров. – СПб.: ООО Изд-во «ФОЛИАНТ», 2004. – 336 с.: ил.
6. Морфометрическая диагностика предрака и рака предстательной железы по данным исследования ploидности / Л.В. Гундорова [и др.] // Архив патологии. – 2003. – №4. – С. 46-50.
7. Мнихович М.В. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в опухолях: современное состояние проблемы / М.В. Мнихович // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №3. – С. 161-171.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Новичков Евгений Владимирович – канд. мед. наук, доц., зав. кафедрой патологической анатомии Кировской государственной медицинской академии, г. Киров.
E-mail: novichkov@mail.ru.