

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КАРИОЦИТОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ

Зуков Р.А., Жуков Е.Л.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, e-mail: evgen_patolog@mail.ru

Проведен анализ влияния различных параметров опухоли на 5-летнюю выживаемость больных почечно-клеточным раком. Были изучены клинические параметры и данные гистологического исследования опухоли у 111 больных, прооперированных по поводу почечно-клеточного рака в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»: 5-летняя выживаемость пациентов, стадия опухолевого процесса, гистологический тип рака, степень гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman, количество митозов на 100 опухолевых клеток, средняя площадь опухолевых клеток и их ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение. Проведенный анализ выявил статистически значимое увеличение размеров опухолевых клеток и их ядер, ассоциированное с увеличением стадии опухолевого процесса и степени злокачественности по S.A. Fuhrman. Кроме того, на показатели 5-летней выживаемости в наибольшей степени оказали влияние степень злокачественности по S.A. Fuhrman и стадия опухолевого процесса, в меньшей степени – гистологический тип опухоли, размерные характеристики опухолевых клеток, ядерно-цитоплазматическое отношение и количество митозов.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, степень гистологической злокачественности, стадия опухолевого процесса, кариоцитометрия, 5-летняя выживаемость

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE KARIOCYTOMETRIC PARAMETERS OF RENAL CELL CARCINOMA

Zukov R.A., Zhukov E.L.

Krasnoyarsk State Medical University prof. V.F. Vojno-Yasnetsky Russian Health Ministry, Krasnoyarsk, e-mail: evgen_patolog@mail.ru

The effect on the 5-year survival of patients with renal cell cancer of different tumor settings. clinical data and histological examination of the tumor were examined from 111 patients operated for renal cell carcinoma in KGBUZ «Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Centre»: 5-year survival rate of patients tumor stage, histological type of cancer, nuclear grading system of renal cell carcinoma by S.A. Fuhrman, the number of mitoses per 100 tumor cells, the area of the tumor cells and their nuclei, nuclear-cytoplasmic ratio. Statistical analysis of these parameters allowed to establish a statistically significant increase in the area of tumor cells and their nuclei by increasing the steel of tumor and grade by S.A. Fuhrman. At the 5-year survival rate of patients to a greater extent influenced by the degree of malignancy S.A. Fuhrman tumor stage and to a lesser extent - the histological type of the tumor, the dimensional characteristics of tumor cells, the nuclear-cytoplasmic ratio and number of mitosis.

Keywords: renal cell carcinoma, nuclear grading system of renal cell carcinoma, tumor stage, kariocytometry, five-year survival prognosis

Почечно-клеточный рак (ПКР) составляет около 90% всех опухолей почек [10]. Ежегодно в мире диагностируется более 338 тыс. новых случаев ПКР [7], в России данное заболевание составляет 3,9% всех неоплазий и входит в десятку ведущих локализаций в структуре онкологической заболеваемости [4].

На данный момент не существует единой классификации факторов прогноза ПКР, поэтому условно их можно разделить на несколько групп: анатомические, гистологические, клинико-лабораторные, молекулярно-генетические и интегрированные системы прогноза [3, 11, 9]. К сожалению, в современной литературе недостаточно данных о прогностической

значимости основных кариоцитометрических параметров: площади ядра, площади опухолевой клетки, ядерно-цитоплазматического отношения и количества митозов. В связи с этим представляют интерес изучение прогностической значимости этих биомаркеров и оценка взаимосвязи их уровня с основными независимыми факторами прогноза ПКР: стадией TNM, гистологическим вариантом опухоли, степенью гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman и др. Проведенный анализ позволит не только оценить прогностическую значимость морфометрических параметров при ПКР в отношении исхода заболевания, но и определить возможность их включения в интегрированные модели и системы.

Цель работы: изучение влияния морфологических параметров почечно-клеточного рака на показатели 5-летней выживаемости.

Материал и методы исследования

Материалом явились клинические параметры и данные патогистологического исследования из КГБУЗ «Красноярский краевой онкологический диспансер» от 111 пациентов, прооперированных по поводу ПКР. Для гистологического и морфометрического исследования были использованы образцы опухолевой ткани от данных больных. Гистологические препараты по стандартной методике были изготовлены и окрашены гематоксилин-эозином в отделении клинической морфологии № 1 КГБУЗ «Красноярское краевое патологоанатомическое бюро» [5].

Распределение больных по стадиям опухолевого процесса проводили в соответствии с классификацией TNM 7 пересмотра [12].

Все гистологические препараты подвергали обзорной микроскопии (для оценки общей гистоархитектоники опухоли) и морфометрии.

Определение гистологического типа опухолей почки проводили в соответствии с классификацией ВОЗ [6]. Для исследования отбирали пациентов со следующими гистотипами ПКР: светлоклеточный, папиллярный, хромофобный и ПКР с саркоматоидной дифференцировкой. Опухоли с саркоматоидной дифференцировкой были выделены нами в отдельную группу (хотя они и не являются самостоятельным гистологическим типом почечно-клеточного рака) в связи с крайне неблагоприятным прогнозом.

При морфометрии измеряли площадь ядер опухолевых клеток и площадь самих клеток в квадратных микрометрах (мкм^2), вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Измерение в каждом случае проводили в пяти гистологических срезах опухолевой ткани, в каждом из срезов в 5 полях зрения, в каждом поле зрения измеряли 10 опухолевых клеток, выбранных случайным образом.

Гистологическую степень злокачественности опухолей почки определяли с использованием классической 4-уровневой системы градации ядерной дифференцировки по S.A. Fuhrman et al. [8]. Учитывались морфофункциональные критерии состояния ядер опухолевых клеток: размер и форма, узор хроматина, наличие ядрышек.

Митотическую активность опухоли определяли по количеству митозов в 100 опухолевых клетках.

Микроскопическое исследование и фотографирование микропрепаратов проводили с применением светового микроскопа Olympus BX45 (Japan) (объективы x4, x10, x20, x40; окуляры x10) с насадкой для фото- и видеодокументации Olympus DP 25 и пакетом программного обеспечения Cell[^]D. Морфометрию осуществляли с применением программного обеспечения JMicroVision 1.2.7.

Полученные данные заносили в протокол исследования, систематизировали и подвергали статистической обработке.

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью программы Statistica 6.1. Для оценки нормальности распределения использовали критерий Шапиро—Уилка (W). В нашем случае распределение признаков не отличалось от нормального, поэтому для описания использовали среднее и 95%-ный доверительный интервал (M (ДИ)); сравнение проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Для выявления взаимосвязи качественных морфологических параметров и показателя 5-летней выживаемости использовали V-критерий Крамера, силу взаимосвязи проверяли по Rea&Parker. Для количественных параметров использовали коэффициент корреляции Спирмена. Различия и соответствия гипотезам считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [1, 2].

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно полученным данным I стадия почечно-клеточного рака была установлена у 55 (49,5%) пациентов, II стадия – у 24 (21,6%), III стадия – у 16 (14,4%), IV стадия – у 16 (14,4%). При этом светлоклеточный гистологический вариант ПКР диагностирован у 45 (40,5%) больных, папиллярный – у 26 (23,4%), хромофобный – у 28 (25,2%), саркоматоидная дифференцировка выявлена у 12 (10,8%) пациентов.

Оценка степени гистологической злокачественности производилась по критериям, разработанным S.A. Fuhrman, на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином. По форме и размеру ядер, наличию ядрышка и структуре хроматина выделяли 4 степени злокачественности. I степень злокачественности встречалась у 46 (41,1%) больных ПКР, II – у 33 (29,7%), III – у 18 (16,2%), IV – у 14 (12,6%).

При подсчете количества митозов в опухолевых клетках было выявлено, что при I стадии ПКР определяется в среднем 0,78 (0,38–1,18) митозов на 100 опухолевых клеток, при

II стадии – 1,75 (0,78–2,72) митозов на 100 опухолевых клеток, при III стадии – 3,88 (2,26–5,49) митозов на 100 опухолевых клеток, при IV стадии – 5,13 (3,21–7,04) митозов на 100 опухолевых клеток. При сравнении этого показателя на разных стадиях опухоли было выявлено, что при I стадии ПКР количество митозов статистически значимо меньше, чем при более прогрессирующих стадиях опухолевого роста ($p < 0,05$). При II стадии ПКР количество митозов также статистически значимо меньше, чем при III и IV стадиях ($p < 0,05$). Статистически значимых различий в количестве митозов опухолевых клеток на III и IV стадиях ПКР не выявлено.

Количество митозов при светлоклеточном раке составляло 1,42 (0,72–2,13) на 100 опухолевых клеток, при хромофобном – 1,54 (0,71–2,36), при папиллярном – 1,77 (0,70–2,84), при саркомоподобном варианте – 6,33 (4,47–8,19). При сравнении этого показателя при различных гистотипах ПКР отмечается, что он статистически значимо больше только при саркомоподобном варианте по сравнению со всеми остальными гистотипами ($p < 0,001$). Светлоклеточный, хромофобный и папиллярный гистотипы ПКР не имеют статистически значимого различия между собой по количеству митозов в опухолевых клетках.

Количество митозов в опухолевых клетках при I степени гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman составляло 0,63 (0,13–1,13) митозов на 100 опухолевых клеток, при II степени гистологической злокачественности – 1,03 (0,64–1,42), при III степени гистологической злокачественности – 4,28 (2,78–5,77), при IV степени гистологической злокачественности – 6,36 (4,74–7,97). При сравнении количества митозов при различных степенях гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman отмечается, что при I степени этот показатель статистически значимо ниже по сравнению с более тяжелыми степенями злокачественности ($p < 0,05$). При II степени количество митозов в опухолевых клетках статистически значимо ниже ($p < 0,001$) по сравнению с III и IV степенями злокачественности (которые не имеют между собой различий по этому показателю).

Одним из важных показателей атипизма опухоли является нарушение соотношения площадей ядра и самой опухолевой клетки. При I и II стадии заболевания площадь ядер опухолевых клеток составляла 28,5 (22,6–34,3) и 33,3 (23,1–44,1) мкм^2 соответственно и не имела статистически значимых отличий. Но при III и IV стадиях наблюдается статистически значимое увеличение площади ядер опухолевых клеток по сравнению с I и II стадиями заболевания ($p < 0,05$): при III стадии – 39,0 (29,9–48,1) мкм^2 , при IV стадии – 59,0 (29,2–88,8) мкм^2 .

Средняя площадь опухолевых клеток при I стадии составляла 134,2 (120,6–147,8) мкм^2 , при II стадии – 132,7 (114,2–151,2) мкм^2 , при III стадии – 162,3 (130,6–194,1) мкм^2 и при IV стадии – 118,4 (91,5–145,3) мкм^2 . При сравнении этого показателя между различными

стадиями статистически значимых различий не наблюдается, за исключением попарного сравнения между опухолевыми клетками III и IV стадии ($p < 0,001$).

Таким образом, показатель ЯЦО был статистически значимо ниже в опухолевых клетках при I стадии – 0,21 (0,20–0,23) ($p < 0,05$) по сравнению с другими стадиями. При II и III стадии опухоли показатель ЯЦО не имел статистически значимых отличий – 0,26 (0,23–0,29) и 0,27 (0,24–0,30) соответственно. У опухолевых клеток при IV стадии ЯЦО составляло 0,31 (0,28–0,34) и было статистически значимо выше, чем у клеток опухоли при I и II стадии заболевания.

При рассмотрении кариоцитометрических показателей в зависимости от гистологического типа опухоли выявлено, что показатель средней площади ядер опухолевых клеток не имел статистически значимых отличий между собой при светлоклеточном, хромофобном и папиллярном гистологическом типе – 33,5 (23,0–44,1), 34,1 (25,0–43,2), 28,2 (24,7–31,7) мкм^2 соответственно. Но при саркомоподобной дифференцировке клеток средняя площадь ядер опухолевых клеток статистически значимо выше ($p < 0,001$), чем при остальных гистологических типах, — 61,9 (33,1–90,8) мкм^2 .

Средняя площадь опухолевых клеток статистически значимо ниже при папиллярном типе опухоли ($p < 0,05$) по сравнению с остальными гистотипами ПКР и составляет 112,3 (96,0–128,6) мкм^2 . Наибольшая площадь клеток наблюдается при саркомоподобном варианте – 149,3 (102,1–196,4) мкм^2 , и этот показатель статистически значимо выше аналогичного при хромофобном и папиллярном гистотипе ПКР ($p < 0,001$). Светлоклеточный и хромофобный гистотип не отличаются по средней площади опухолевых клеток – 144,6 (131,0–158,2) и 137,1 (117,0–157,2) мкм^2 соответственно. ЯЦО статистически значимо ниже при светлоклеточном гистотипе ПКР – 0,20 (0,18–0,21) ($p < 0,001$). Хромофобный и папиллярный гистотипы рака почки статистически не отличаются друг от друга по этому показателю — 0,25 (0,23–0,27) и 0,27 (0,25–0,30) соответственно. При саркомоподобном гистотипе наблюдается наибольшее ядерно-цитоплазматическое отношение – 0,35 (0,33–0,37) ($p < 0,001$).

Морфометрические данные опухолевых клеток напрямую зависели от степени их гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman. Так, при увеличении степени гистологической злокачественности статистически значимо ($p < 0,05$) возрастал показатель средней площади ядра опухолевых клеток: при I степени – 26,5 (19,8–33,3) мкм^2 , II степени – 29,8 (27,3–32,3) мкм^2 , III степени – 39,9 (26,7–53,2) мкм^2 , IV степени – 72,6 (40,2–104,9) мкм^2 соответственно. Однако при этом средняя площадь опухолевых клеток при различной степени злокачественности не имела статистически значимых отличий: при I степени – 119,6 (109,4–129,9) мкм^2 , II степени – 149,4 (133,1–165,7) мкм^2 , III степени – 147,8 (115,4–180,3)

мкм², IV степени – 140,2 (98,7–181,6) мкм² соответственно. Показатель ЯЦО при I и II степени составлял 0,21 (0,20–0,23) и 0,24 (0,22–0,26) соответственно и не имел статистически значимых различий. При III степени злокачественности ЯЦО в опухолевых клетках было 0,26 (0,23–0,29) и было статистически значимо выше при сравнении с I степенью ($p < 0,001$). Этот же показатель при IV степени составлял уже 0,33 (0,31–0,36) и был статистически значимо больше по сравнению с другими степенями злокачественности по S.A. Fuhrman ($p < 0,01$).

Изучение клинических данных показало, что 5-летний порог выживаемости преодолели 78,4% пациентов, а 21,6% пациентов умерли в течение 5 лет после оперативного вмешательства.

При сопоставлении полученных данных с 5-летней выживаемостью больных ПКР с помощью V-критерия Крамера было установлено, что наибольшую прогностическую значимость среди качественных показателей имели степень гистологической злокачественности по S.A. Fuhrman ($V=0,836$) (очень сильная сила взаимосвязи по Rea&Parker) и TNM стадия почечно-клеточного рака ($V=0,710$) (сильная взаимосвязь по Rea&Parker). Гистологический тип опухоли имел меньшее влияние на прогноз 5-летней выживаемости ($V=0,338$) (средняя сила взаимосвязи по Rea&Parker).

Из кариоцитометрических показателей среднюю силу взаимосвязи ($p < 0,01$) с 5-летней выживаемостью пациентов имели количество митозов ($r=0,465$), средняя площадь ядра опухолевых клеток ($r=0,465$), ядерно-цитоплазматическое отношение опухолевых клеток ($r=0,375$).

Заключение

Увеличение степени гистологической злокачественности и распространенности опухолевого процесса при почечно-клеточном раке ассоциировано со статистически значимым повышением кариоцитометрических показателей опухолевых клеток. Количество митозов, площадь ядер и ядерно-цитоплазматическое отношение опухолевых клеток имеют среднюю силу взаимосвязи с отдаленными результатами лечения больных ПКР. Несмотря на меньшую силу взаимосвязи изучаемых кариоцитометрических показателей с показателями 5-летней выживаемости по сравнению с TNM стадией и степенью гистологической дифференцировки по S.A.Fuhrman, полученные данные можно использовать для создания моделей прогноза эффективности лечения и течения заболевания у больных почечно-клеточным раком.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г/ Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 381 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 460 с.
3. Горелов А.И. Современные аспекты прогнозирования рака почки // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008. – Вып. 4. – С. 153–165.
4. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) // Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 250 с.
5. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров А.В.. – СПб: Спецлит, 2010. – 95 с.
6. Eble J.N. WHO histological classification of tumours of the kidney // Pathology and Genetics of Tumours of Urinary System and Male Genital Organs. – Lyon: IARC Press, 2004. – P. 10.
7. Ferlay J. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014. URL: <http://globocan.iarc.fr> (дата обращения: 22.11.2016).
8. Fuhrman S.A., Lasky L.C., Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma / S.A. Fuhrman., L.C. Lasky, C. Limas // Am. J. Surg. Pathol. – 1982. – Vol. 6, № 7. – P. 655–663.
9. Lam J.S. Renal cell carcinoma 2005: new frontiers in staging, prognostication and targeted molecular therapy // J. Urol. – 2005. – Vol. 173. — P. 1853–1862.
10. Ljungberg B. The epidemiology of renal cell carcinoma // Eur. Urol. – 2011. – Vol. 60, № 4. – P. 615–621.
11. Ljungberg B. Renal cell carcinoma / Guidelines European Association of Urology, 2016. – URL: <https://uroweb.org/guideline/renal-cell-carcinoma> (дата обращения: 22.11.2016).
12. Sobin L.H. TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 7th ed. / Sobin L.H., Gospodariwicz M., Wittekind C. – Wiley-Blackwell, 2009. – P. 255–257.