

А.М. Пожарицкий

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЯДЕР НАИБОЛЕЕ
ЧАСТЫХ ВАРИАНТОВ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА**

Научный руководитель: канд. мед. наук., доц. Т.А. Летковская

Кафедра патологической анатомии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.M. Pozharytski

**MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE NUCLEI OF
THE MOST COMMON VARIANTS OF RENAL CELL CARCINOMA**

Tutor: associate professor T.A. Letkovskaya

Department of Pathological Anatomy

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Проведенный патоморфологический анализ светлоклеточного варианта почечно-клеточного рака показал статистически значимые дифференциально-диагностические признаки, которые имеют значение при постановке диагноза и дифференциации его от других вариантов почечно-клеточного рака, таких как папиллярный и хромофобный варианты.

Ключевые слова: светлоклеточный почечноклеточный рак, морфометрический анализ, иммуногистохимия.

Resume. The pathomorphological analysis of the light-cell variant of renal cell carcinoma showed statistically significant differential diagnostic signs that are important when making a diagnosis and differentiating it from other variants of renal cell carcinoma, such as papillary and chromophobic variants.

Keywords: clear cell renal cell carcinoma, morphometric analysis, immunohistochemistry.

Актуальность. Почечно-клеточный рак (рак почки, ПКР) был и остается одной из важнейших проблем онкоурологии, что выражается неуклонным ростом заболеваемости на 6-10% каждый год [1].

Патология возникает с одинаковой частотой как у мужчин (2,4% по структуре смертности от онкологических заболеваний в РБ), так и у женщин (2,1%) и составляет 4% от всех злокачественных опухолей взрослых. Средний возраст пациентов, имеющих диагноз РП, составляет 60 лет (58,9 г. у мужчин и 61,1 г. у женщин) [2]. В последние годы наблюдается рост частоты встречаемости почечно-клеточного рака во всем мире, в том числе и в Беларуси - заболеваемость выросла с 9,5 до 20,3 на 100000 населения за период с 1994 по 2018 гг.

В настоящее время цитоморфологические критерии различных вариантов РП описаны недостаточно, особенно в аспекте дифференциальной диагностики с другими опухолями почек [3].

Метод морфометрического анализа позволяет повысить точность цитологической диагностики опухолей почки и разработать необходимые диагностические критерии различных вариантов РП, что способствует верной морфологической диагностике и помогает врачу-онкологу определить дальнейший ход лечения [4].

Цель: определить спектр патоморфологических признаков светлоклеточного варианта почечно-клеточного рака методом морфометрического анализа и описать их

значение в дифференциальной диагностике с другими почечными новообразованиями.

Задачи:

1. Проанализировать гистологические признаки светлоклеточного варианта почечно-клеточного рака.
2. Изучить дифференциально-диагностические морфометрические показатели различных вариантов ПКР.
3. Провести сравнительную характеристику морфологических параметров различных вариантов ПКР.

Материал и методы. Нами проведен анализ операционного материала от 20 пациентов (10 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 29 до 83 лет (медиана $64 \pm 3,2$ года), имеющих верифицированный диагноз почечно-клеточная карцинома из ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова».

Грейдирование и стадирование опухоли проводили по рекомендациям ВОЗ (World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics: Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, France: IARC Press, 2004:179–184).

Патоморфологическую оценку материала проводили как на микроскопическом, так и на макроуровнях. Использованные методы: гистологический и морфометрический. Гистологическую обработку материала проводили по следующей методике: материал забирали из опухоли и из неизменной ткани почки. Операционный материал маркировали, после чего фиксировали 10% раствором формалина на протяжении 24 часов. Далее проводилась спиртовая дегидратация с последующим заключением в парафин. В конце препараты окрашивались гематоксилином и эозином и при необходимости проводилось иммуногистохимическое исследование. Морфометрический анализ проведен с использованием программного обеспечения для компьютерного анализа изображений Aperio ImageScope (v12.01.0) с использованием инструментов Ruler tool (для измерения длины/ширины структуры), Ellipse tool (для измерения площади структуры), на микроскопе Olympus BX53, а также с использованием цифрового сканера MoticEasyScan Pro 6. Исследовалась архитектура опухоли и перитуморозной зоны. При морфометрическом исследовании ядра определяли его площадь (мкм^2), периметр, диаметр (мкм). Проводилось сравнение между показателями ядер опухолевых клеток при различных вариантах ПКР. Для морфометрического анализа выбирался фрагмент со значительными скоплениями опухолевых клеток. Далее высчитывались параметры ядер опухолевых клеток (среднее количество - 60 на исследуемый фрагмент) и статистическая обработка полученной информации в программе Microsoft Excel 2010.

Макроскопическое строение анализировалось по данным патологоанатомических заключений протоколов исследования операционного материала рака почки. В протоколах описан диагноз светлоклеточного варианта почечно-клеточного рака (СПКР) (WHO 8310/3), также для сравнения взяты протоколы с хромофобным почечно-клеточным раком (ХПКР) ($n=3$, WHO 8317/3) и папиллярным почечно-клеточным раком (ППКР) ($n=3$, WHO 8260/3). Оценивались следующие патоморфологические параметры: паттерны роста (в т.ч. кисты), наличие капсулы опухоли, признаки

инвазивного роста, степень сохранения почечной паренхимы, а также вторичные изменения (кровоизлияния, очаги некроза, миксоматоза). В дополнение анализировались фоновые изменения почечной ткани.

Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Статистическую достоверность между изучаемыми признаками оценивали с использованием корреляционного анализа и рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r) для оценки силы связи между переменными.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что по мере снижения степени дифференцировки опухоли средние значения площади цитоплазмы и ядра возрастают со статистически значимыми различиями. При высокой степени дифференцировки опухоли СПКР среднее значение площади клетки составляет $101,7 \pm 6,8$ мкм², а ядра – $30,4 \pm 0,5$ мкм²; в случае низкодифференцированного новообразования площадь клетки в среднем составила $227,4 \pm 21,2$ мкм², а ядра $81,8 \pm 9,6$ мкм² (разница по площади цитоплазмы – 55,3%, по площади ядра – 57,6%; $p < 0,05$). При высокодифференцированном ХПКР среднее значение площади клетки составляет $92,3 \pm 4,9$ мкм², а ядра – $26,9 \pm 0,8$ мкм²; в случае низкодифференцированного новообразования площадь клетки в среднем составила $192,6 \pm 16,7$ мкм², а ядра $69,3 \pm 11,2$ мкм² (разница по площади цитоплазмы – 52%, по площади ядра – 54,6%; $p < 0,05$). При высокодифференцированном ППКР среднее значение площади клетки составляет $118,3 \pm 7,1$ мкм², а ядра – $33,1 \pm 1,2$ мкм²; в случае низкодифференцированного новообразования площадь клетки в среднем составила $261,8 \pm 24,9$ мкм², а ядра $124,4 \pm 23,4$ мкм² (разница по площади цитоплазмы – 58,7%, по площади ядра – 60,9%; $p < 0,05$).

Периметры опухолевых клеток были следующими: при СПКР высокой дифференцировки $52,9 \pm 6,1$ мкм, при низкой дифференцировке – $117,6 \pm 19,4$ мкм; при ХПКР с высоким грейдом периметр составил $48,1 \pm 5,3$ мкм, а с низким грейдом – $100,8 \pm 16,5$ мкм; при высокодифференцированном ППКР периметр опухолевой клетки в пределах $61,8 \pm 6,2$ мкм, тогда как при низкодифференцированном – $134,4 \pm 21,6$ мкм, $p < 0,05$.

Проанализировано ЯКО среди высоко дифференцированных и низкодифференцированных опухолей. При СПКР высокой дифференцировки данный показатель составил в среднем $0,31 \pm 0,14$, а при низкой дифференцировке – $0,37 \pm 0,13$ (разница – 16,2%; $p < 0,05$). В случае ХПКР в опухолях с высоким грейдом ЯКО в среднем $0,29 \pm 0,14$, при низком грейде – $0,36 \pm 0,11$ (разница – 19,4%; $p < 0,05$). При анализе ППКР вариантов высокой дифференцировки ЯКО был в пределах $0,28 \pm 0,12$, а при низкой дифференцировке – $0,46 \pm 0,09$ (разница – 39%; $p < 0,05$).

Далее исследовались такие клеточные параметры, как КФ (отношение наибольшего размера клетки к наименьшему) и овальность ядра (отношение наибольшего размера ядра к наименьшему) опухолевых клеток. КФ в случае с СПКР составил $0,59 \pm 0,076$ при высокой дифференцировке и $0,67 \pm 0,064$ при низкой (разница 12%, $p < 0,05$); ХПКР: $0,64 \pm 0,058$ при высоком грейде, а при низком – $0,81 \pm 0,073$ (разница 21%, $p > 0,05$). В случае с ППКР определен КФ $0,61 \pm 0,038$ при высокой дифференцировке опухоли и $0,78 \pm 0,091$ при низкой (разница 22%, $p > 0,05$). Овальность ядра при СПКР высокой дифференцировки составила $1,71 \pm 0,048$, при низкой – $1,87 \pm 0,026$ (разница 8,5%, $p < 0,05$). ХПКР: $1,62 \pm 0,039$ при высоком грейде, а при низком – $1,76$

$\pm 0,073$ (разница 7,9%, $p < 0,05$). Овальность ядер при ППКР высокой дифференцировки $1,76 \pm 0,068$, а при низкой – $1,88 \pm 0,049$ (разница 6,3%, $p < 0,05$).

Морфометрические параметры ядер опухолевых клеток в зависимости от пола пациента (светлоклеточный вариант) – у мужчин были достоверно выше, чем у женщин: площадь: $31,2 \pm 0,9$ мкм² у мужчин против $28,6 \pm 0,4$ мкм² у женщин ($p < 0,05$); периметр: $20,42 \pm 0,2$ мкм у мужчин против $18,5 \pm 0,7$ мкм у женщин ($p < 0,05$); диаметр: $6,1 \pm 0,7$ мкм у мужчин против $5,8 \pm 0,1$ мкм ($p < 0,05$). При хромофобном варианте морфометрические параметры ядер у мужчин также оказались достоверно выше, чем у женщин: площадь: $28,7 \pm 1,2$ мкм² у мужчин против $26,3 \pm 0,5$ мкм² у женщин ($p < 0,05$); периметр: $19,7 \pm 0,7$ мкм у мужчин против $16,9 \pm 1,0$ мкм у женщин ($p < 0,05$); диаметр: $5,4 \pm 0,7$ мкм у мужчин против $4,9 \pm 0,1$ мкм ($p < 0,05$). По всем параметрам ядра опухолевых клеток хромофобного почечно-клеточного рака уступают ядрам светлоклеточного варианта. При папиллярном варианте морфометрические параметры ядер у мужчин были достоверно выше, чем у женщин: площадь: $34,2 \pm 0,6$ мкм² у мужчин против $29,9 \pm 0,4$ мкм² у женщин ($p < 0,05$); периметр: $22,9,42 \pm 0,2$ мкм у мужчин против $21,0 \pm 0,5$ мкм у женщин ($p < 0,05$); диаметр: $7,2 \pm 1,1$ мкм у мужчин против $6,6 \pm 0,9$ мкм ($p < 0,05$). По всем параметрам ядра опухолевых клеток папиллярного почечно-клеточного рака превосходят ядра светлоклеточного варианта.

Выводы:

1. В зависимости от площади цитоплазмы и ядра опухолевой клетки можно судить о степени ее дифференцировки – в случае с СПКР разница составила 55,3% (по площади цитоплазмы) и 57,6% (по площади ядра) между высоко- и низкодифференцированной клеткой, $p = 0,0428$; ХПКР: 52% и 54,6%, $p = 0,0481$; ППКР: 58,7% и 60,9%, $p = 0,0496$.

2. Разница коэффициента формы между опухолями с высоким и низким грейдом составила при СПКР 12% ($p < 0,00$), при ХПКР – 21% ($p < 0,05$), при ППКР – 22% ($p < 0,05$).

3. Чем больше ядерно-клеточное отношение, тем ниже степень дифференцировки опухоли: разница между случаями с высоким и низким грейдом составила при СПКР 16,2% ($p = 0,0239$), при ХПКР – 19,4% ($p = 0,0492$), при ППКР – 39% ($p = 0,0479$).

4. Наибольшее ЯКО наблюдалось в случае СПКР и составило $0,31 \pm 0,14$, далее ХПКР – $0,29 \pm 0,14$ и ППКР – $0,28 \pm 0,12$. Наибольший КФ отмечен при ХПКР – $0,64 \pm 0,058$; при ППКР КФ составил $0,61 \pm 0,038$, и при СПКР – $0,59 \pm 0,076$. Значимость различий при $p < 0,05$.

5. Морфометрические параметры ядер клеток ПКР могут напрямую зависеть от пола пациента. В нашем случае наблюдалось превосходство ядер по размеру у пациентов мужчин по сравнению с женщинами (СПКР: $31,2 / 28,6$ мкм, ХПКР: $28,7$ мкм / $26,3$ мкм, ППКР: $34,2$ мкм / $29,9$ мкм).

Литература

1. Mahul B. Amin, Satish K. Tickoo, Diagnostic pathology: genitourinary, second edition. – Salt Lake City, UT, USA: Elsevier, Inc., 2016. – 1070 p. – P. 54-64.
2. Ming Zhou, Cristina Magi-Galluzzi, Genitourinary pathology (a volume in the foundations in diagnostic pathology series). – Philadelphia, PA, USA: Elsevier, Inc., 2007. – 658 p. – P. 281-286.

3. David G. Bostwick, Liang Cheng, Urologic surgical pathology. – Philadelphia, PA, USA: Elsevier, Inc., 2014. – 1294 p. – P. 83-88.

4. Holger Moch, Peter A. Humphrey, Thomas M. Ulbright, Victor E. Reuter, WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. – Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2016. – 352 p. – P. 18-21.