

УДК 618.11-007.6

Воробьева О.В., Новичков Е.В., Романова Л.П.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ СТРОМЫ ОПУХОЛЕВОГО УЗЛА ПРИ ПРОГНОЗЕ ПРОГРЕССИИ ЭНДОМЕТРИОИДНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ

ФГОУ ВПО Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары

Резюме. Наше исследование направлено на установление роли морфометрических показателей, характеризующих строму рака яичников в возможности последующего развития метастазов этого новообразования. Метастазирующие эндометриоидные карциномы яичников отличаются обширными участками некроза и стромы. Нарастание риска развития опухолевых депозитов сопряжено с улучшением васкуляризации опухолевого узла. Возрастает количество новообразованных сосудов и плотность васкуляризации опухолевой ткани. Увеличение удельной доли высокофракционированного отёка стромы значительно повышает вероятность имплантационного метастазирования. Коллагеновые волокна стромы метастазирующих карцином женских гонад характеризуются достоверно значимо меньшей гомогенностью.

Ключевые слова: прогноз, рак, яичник, метастазирование, эндометриоидный, морфология, строма.

Vorobeva O.V., Novichkov E.V., Romanova L.P.

FEATURES OF THE MORPHOLOGY OF THE STROMA OF THE TUMOR SITE IN THE PREDICTION OF PROGRESSION OF ENDOMETRIOID OVARIAN CANCER

Summary. Our study aimed at establishing the role of morphometric indicators stroma of ovarian cancer in the possibility of subsequent development of metastases of this tumor. Metastatic endometrioid carcinoma of the ovary differ extensive areas of necrosis and stroma. Increase the risk of tumor deposits associated with improved vascularization tumor site. Increase the number of newly formed vessels and the density of vascularization of tumor tissue. The increase in the share of highly fractionated edema of the stroma significantly increases the likelihood of implantation metastasis. The collagen fibers of the stroma metastatic carcinomas of the female gonads are characterized by significantly less homogeneity.

Keywords: forecast, cancer, ovary, metastasis, endometrioid, morphology, stroma.

Введение. Можно без лишнего преувеличения констатировать тот факт, что самым серьезным и коварным онкологическим заболеванием у женщин остается рак яичников [6]. Рак яичников, в отличие от других злокачественных новообразований, характеризуется преимущественно имплантационным метастазированием и стадивируется при хирургическом вмешательстве. Адекватное стадирование признано ведущей точкой отсчета при выборе метода лечения, ведения больных карциномой яичников и прогноза для жизни [7]. Результаты лечения карцином придатков матки неудовлетворительны, что связано, по нашему мнению, с высокой встречаемостью запущенных вариантов, когда диагностируются вторичные очаги опухолевого поражения. Согласно данным диспансеризации, пятилетняя выживаемость таких больных в России колеблется в диапазоне 12-42%. Современное представление о причинах развития опухолевого процесса отнюдь не исчерпывает проблему [9]. Необычайная неоднородность структуры карцином женской гонады при микроскопии, разнообразие их сочетаний, отсутствие патогномичных отличий между опухолями разной степени гистологической дифференцировки – всё это сильно затрудняет диагностику и планирование лечения больных [4]. Краеугольным камнем представляется обнаружение и оценка патогистологических прогностических факторов, характеризующих биологические особенности опухоли. Сведения о необходимости учёта гистологического строения и степени гистологической злокачественности рака яичников крайне скудны и неоднозначны. Вместе с тем, отсутствует унифицированная система предсказания прогрессии злокачественного новообразования яичников в виде метастазирования, основанная на использовании современных высокоточных методов диагностики [2]. Одним из основных отличительных свойств опухоли, как патологического процесса, является органоидность. Памятуя об этом, ведущие исследователи придают большое значение стромально-паренхиматозным взаимоотношениям в злокачественных эндо-

метриоидных новообразованиях яичников, но не указывают прогностическую роль отдельных компонентов стромы опухоли [1, 5]. Оценка стромального компонента в большинстве случаев проводится на субъективном уровне без использования современных высокоточных методик, что не позволяет использовать их при определении индивидуального прогноза.

Цель исследования. Наше исследование направлено на установление роли морфометрических факторов, характеризующих строму первичной опухоли, в возможности последующего развития метастазов злокачественного новообразования.

Задачи исследования.

Исходя из цели исследования, предполагается решить следующие задачи:

1. Уточнить прогностическое значение соотношения объемных долей паренхимы, стромы и некроза в опухолевом узле при метастазировании эндометриоидного рака яичников;
2. Изучить степень риска развития метастазов эндометриоидного рака яичников и выраженности васкуляризации туморозного узла;
3. Выяснить влияние изменения удельной доли высокофракционированного отёка стромы на вероятность имплантационного метастазирования эндометриоидных карцином женских гонад.

Материалы и методы. Нами исследованы гистологические препараты операционно-биопсийного материала от 76 женщин со злокачественными опухолями яичников эндометриоидного гистологического типа. Всем пациенткам с первичными эндометриоидными карциномами женских гонад проводилась экстирпация матки, удаление придатков матки с обеих сторон с одномоментной резекцией большого сальника. У всех наблюдаемых отсутствовала противоопухолевая предоперационная терапия. После операции осуществлялась химиотерапия по общепринятой онкологической схеме. Ткань опухоли микротомировали толщиной по 5 мкм, затем окрашивали их гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по методу ван Гизон. Количественная морфометрия компонентов, составляющих строму, осуществлялась на микроскопе Leica, ассоциированного с цифровой фотокамерой Progress разрешением 1080 x 720 pixel во всех 76 наблюдениях с применением системы автоматического анализа изображения «Морфология 5.0». В автоматическом режиме были измерены площадь, количество сосудов микроциркуляторного русла и плотность васкуляризации туморозного узла, выраженность отёка опухолевой стромы и его равномерность, степень деградации и зрелости коллагена. Для обеспечения репрезентативности изучаемых результатов в каждом микрообъекте измерялись параметры компонента гистона в 10 произвольно выбранных полях зрения. Определение интенсивности окраски коллагеновых волокон проводили на гистологических препаратах, окрашенных пикрофуксином по ван Гизон. Использовалась система фотометрического анализа MpvBio (Leica GmbH, 1998) под управлением Windows 98 Second Edition на базе компьютера Intel Pentium III, совместимая с микроскопом Leica Leitz DMRX со спектральным анализатором Leica MPV-SP. Строго учитывали требования к сравнительной гистоспектрофотометрии. В частности: толщина гистологических срезов была одинаковая (5 мкм), также толщина предметных и покровных стёкол, окраска всех сравниваемых срезов осуществлялась одновременно, условия освещения и пороги яркости измеряемых объектов тоже были одинаковыми для всех измерений. Регистрация данных осуществлялась в 10 произвольно выбранных полях зрения. Измерение проводилось путем перевода цветного изображения в серое с градацией 256 оттенков. В дальнейшем определяли коэффициенты поглощения («Absorbance») света. Цифровые результаты, полученные в ходе научной работы, подвергались статистической обработке. При определении значимости различий между переменными в двух группах использовали U-критерий Манна-Уитни, между тремя группами и более – H-критерий Крускала-Уоллиса. Силу корреляционной связи между параметрами определяли ранговой корреляцией Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждений. Среди исследуемых новообразований в 13 случаях была установлена высокая степень гистологической дифференцировки, у 25 пациенток выявлялись умереннодифференцированные карциномы, у 38 – низкодифференцированные. Отмечено, что частота метастазирования в группе эндометриоидных неоплазм составила 76,3% (58 случаев).

Подтверждено, что прогноз для жизни у больных с метастатическими очагами рака яичников значительно хуже, чем у пациентов без метастазов. При этом продолжительность жизни у первых составила 14,8 мес., а у вторых – 59,4 мес., $p > 0,05$.

При исследовании соотношения объемных долей стромы, паренхимы и спонтанных некрозов в неопластическом узле метастазирующих и неметастазирующих карцином яичников, были получены результаты, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Соотношение паренхимы, стромы и некрозов в опухолевом узле у больных эндометриоидным раком яичников с учетом наличия метастазов ($M \pm m$)

Группа	Исследуемый параметр		
	Объемная доля паренхимы, %	Объемная доля стромы, %	Объемная доля некроза, %
Без метастазов	82,9±16,42	15,2±6,24	1,9±0,64
С метастазами	75,6±12,07	21,2±9,36	3,3±1,71
p	0,421	0,084	0,034

Сведения, приведенные в таблицы 1 наглядно иллюстрируют, что эндометриоидные злокачественные опухоли яичников с высоким риском метастазирования характеризуются значимо большими показателями объемной доли некротизированных тканей 3,3±1,71%, $p = 0,034$. Из вышеизложенного следует, что нарастание объема спонтанных некрозов играет ключевую роль в становлении опухолевой прогрессии при эндометриоидном раке яичников. Мы предполагаем, что установленный факт может быть объяснен прямым повреждением сосудистой стенки и/или серозной оболочки в области некроза. Это в свою очередь облегчает распространение раковых клеток в окружающие ткани и ведет к потере контактного торможения размножения опухолевых клеток [3].

Чтобы оценить значение морфометрических критериев канцероматозного узла в этапности метастазирования, мы изучили объемные доли паренхимы, стромы и некрозов в эндометриоидных неоплазмах женских половых желез, дающих опухолевые отсеки по брюшине, в большой сальник и плевру. Таким образом, стромально-паренхиматозные взаимоотношения в первичной эндометриоидной опухоли отличаются в соответствии с локализацией метастатических очагов. Так, наименьшие значения количества паренхимы (64,8±9,24%, $p = 0,046$) при максимальной доле стромального компонента (30,1±13,42%, $p = 0,024$) определялись в карциномах, дающих раковые отсеки в плевру. Одновременно эти неоплазмы характеризовались самыми высокими показателями объемной доли некрозов (6,9±3,81%), а также имели наихудший прогноз заболевания среди всех метастазирующих опухолей. У этих пациенток продолжительность жизни варьировала около 19,0±12,97 мес.

При изучении морфометрических параметров микроциркуляторного русла нами установлены статистически значимые различия плотности васкуляризации опухоли в сравниваемых группах. Одновременно отмечено значительное уменьшение средней площади сосудов микроциркуляторного русла в метастазирующих злокачественных эпителиальных образованиях яичников при большем их количестве на единицу площади стромы (табл.2).

Таблица 2

Микроморфометрическая характеристика микроциркуляторного русла опухолевого узла эндометриоидных овариальных карцином

Наличие метастазов	Кол-во сосудов, шт./10000 мкм ²	Средняя площадь сосуда, мкм ²	Плотность васкуляризац. мкм ² /1000 мкм ²	Площадь отека стромы, %
Без метастазов	2,2±0,96	125,5±30,68	27,7±8,64	13,0±2,42
С метастазами	5,9±1,24	64,3±26,10	39,8±10,46	20,9±4,27
p	0,003	0,031	0,05	0,049

Эти сведения позволяют заключить, что состояние микроциркуляторного русла в опухолевом узле играет решающее значение в прогнозе метастатического процесса при эндо-

метриоидном овариальном раке. Увеличение плотности васкуляризации неоплазмы резко повышает риск появления раковых очагов в других органах. Кроме того, наибольшие величины этих параметров констатированы нами при наличии опухолевых отсеков в пределах большого сальника. Одновременно нарастает и отёк стромы неоплазмы. Опираясь на полученные сведения, можно косвенно судить об увеличении скорости неоангиогенеза в эндометриоидных карциномах, склонных к генерализации, и рассматривать этот показатель при комплексной оценке злокачественного потенциала опухоли. Ускорение ангиогенеза в раковом узле, на наш взгляд, закономерно, особенно в случаях, сопровождающихся обширными некрозами. Так, вокруг очага некроза всегда формируется область демаркационного воспаления, богатая различными биологически активными веществами, в том числе и факторами роста эндотелия сосудов (VEGF) [10].

Исходя из мнения о том, что ангиогенез в злокачественных опухолях несовершенен и сопровождается развитием сосудов, имеющих прерывистую базальную мембрану с нарушенной эндотелиальной выстилкой, мы оценили выраженность отёка стромы в опухолях исследуемых групп. Так, в карциномах без имплантационных метастазов площадь отёка равнялась $13,0 \pm 2,42\%$ от объёма стромы неоплазмы, а в метастазирующих злокачественных эпителиальных новообразованиях яичника этот показатель составил $20,9 \pm 4,27\%$ ($p=0,049$). Одновременно с этим, при изучении равномерности распределения отёка выявлено, что коэффициент фракционирования зоны отёка статистически значимо ($p=0,01$) выше в группе неоплазм с метастазами $0,20 \pm 0,054$, в то время как неметастазирующие карциномы характеризуются большей гомогенностью отёчных тканей $0,14 \pm 0,057$. Полученные данные позволяют косвенно судить о том, что скорость неоангиогенеза выше в метастазирующем раке женских гонад. Увеличение «наводнения» стромы, несомненно, влечет нарастание скорости дренажа тканевой жидкости по сосудам и серозным оболочкам, а это облегчает и ускоряет диссеминацию опухолевых клеток по организму пациента.

Немаловажен, на наш взгляд, анализ степени зрелости и степени дезорганизации коллагеновых волокон стромы злокачественных эпителиальных неоплазм яичников с разным прогнозом. В связи с этим были измерены плотность коллагеновых волокон по серому и разница уровней серого в исследуемой области. Полученные сведения приведены в таблице 3.

Таблица 3

Интенсивности окраски коллагеновых волокон в строме эндометриоидных карцином с учётом наличия опухолевых отсеков

Исследуемая группа	Уровень интенсивности по серому, Грей	Разница уровней серого, Грей
Без метастазов	$149,4 \pm 18,24$	$17,0 \pm 1,41$
Метастазирующие	$149,5 \pm 17,36$	$20,4 \pm 3,29$
p	0,980	0,046

Очевидно, что качественный состав коллагенового компонента в строме опухолей обеих групп одинаков, так как не выявляется отличий в интенсивности окраски волокон ($149,4$ и $149,5$ Грей). Вместе с тем, неравномерность окраски коллагена более ярко выражена в карциномах, которые в последующем дают метастазы, на что указывает разница в уровнях серого ($p=0,046$). Известно, что опухолевые клетки способны секретировать факторы, позволяющие фибробластам расти и синтезировать компоненты волокон соединительной ткани. К ним относится трансформирующий фактор роста, который на поздних стадиях онкологического процесса выступает в роли опухолевого промотора. Соответственно, чем агрессивней опухоль, тем неравномернее происходят процессы коллаген образования [8].

Выводы.

1. Метастазирующие эндометриоидные карциномы яичников характеризуются обширными участками некроза и стромы (более $3,3 \pm 1,71\%$ и $21,2 \pm 9,36\%$ соответственно);
2. Увеличение риска развития метастазов сопряжено с улучшением васкуляризации опухолевого узла: количество новообразованных сосудов возрастает до $5,9 \pm 1,24$ шт/10000 мкм²

опухолевой ткани, а плотность васкуляризации до $39,8 \pm 10,46$ мкм²/1000 мкм² опухолевой ткани;

3. Увеличение удельной доли высокофракционированного отёка стромы до $20,9 \pm 4,27$ значительно повышает вероятность имплантационного метастазирования ($p=0,01$);
4. Коллагеновые волокна стромы метастазирующих карцином женских гонад характеризуются значимо меньшей гомогенностью ($p=0,046$).

Литература

1. Данилова И.А. Паренхиматозно-стромальные взаимоотношения при раке желудка кишечного типа / И.А. Данилова, Н.М. Аничков // Архив патологии. – 2011. – № 3. – С. 31-34;
2. Идентификация протеомных маркеров метастазирования рака яичников / В.Е. Шевченко [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2011. – №4. – С. 76-83;
3. Инсулиноподобные факторы роста в патогенезе и прогнозе рака яичников / Н.В. Бочкарева [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Т.45, №3. – С. 74–81;
4. Новичков Е.В. Значение морфометрических параметров опухоли в прогнозе метастазирования серозной овариальной карциномы // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2006. – №3. – С. 16-20;
5. Новичков Е.В. Количественная характеристика компонентов стромы в прогнозе рецидивирования рака яичников / Е.В. Новичков, А.А. Вотинцев // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 4. – С. 29-31;
6. Рахматуллина И.Р. Современные реалии и возможности хирургического лечения рака яичников / И.Р. Рахматуллина, Г.В. Хамитова, Л.В. Халикова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т.8, №3. – С. 117-123;
7. Шпенкова А.А. Рак яичников: эффективность лечения в зависимости от градаций карциноматоза или нерешенные вопросы стадирования // Вестник Новгородского государственного университета. – 2010. – №59. – С. 116-120;
8. Экспрессия белков, ассоциированных с клеточной подвижностью, в злокачественных новообразованиях яичника / Н.В. Юнусова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – Т.49, № 1. – С. 54–61;
9. Auersperg N. Ovarian surface epithelium as a source of ovarian cancers: unwarranted speculation or evidence-based hypothesis // Gynecologic Oncology. – 2013. – Т. 130, № 1. – С. 246-251;
10. Raspollini M.R., Castiglione F., Garbini F. et al. Correlation of epidermal growth factor receptor expression with tumor microdensity vessels and with vascular endothelial growth factor expression in ovarian carcinoma // Int. J. Surg. Pathol. – 2005. – Vol. 13 (2). – P. 135–142.