

© Коллектив авторов, 2013
УДК 616.316-006-076.5-076.4

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СТЕПЕНИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ ПРОТОКОВОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Е.М. Филиппова¹, О.В. Паклина^{1,2}, И.А. Чекмарева¹, А.В. Кочатков¹,
А.Н. Лебедева, Э.В. Кравченко²*

ФГБУ Минздрав РФ Институт хирургии им. А.В. Вишневского, г. Москва (1)
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва (2)

В статье приводятся результаты исследования 47 больных (22 мужчин и 25 женщин) с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы, находившихся на лечении в Институте хирургии им. А.В. Вишневского с 2005 по 2012 годы. Возраст пациентов колебался от 47 до 76 лет, средний возраст составил 60 лет. У 24 пациентов к моменту оперативного вмешательства была диагностирована IIb (pT2-3, N1) стадия опухоли, у 19 – IIa (pT2-3, N0), у 3 – III (pT4), у 1 – Ib (pT2, N0). В 27 наблюдениях выявлены метастазы в регионарные лимфатические узлы (N1). Стадирование проводилось согласно 7 пересмотру международной классификации TNM (UICC, 2010г). Полученные результаты показывают, что такие клинкоморфологические характеристики как пол, возраст пациентов, стадия и размер первичной опухоли не влияют на послеоперационную выживаемость. Не получено достоверной корреляции между выживаемостью больных и степенью злокачественности опухоли (grade), определенной по степени дифференцировки, как рекомендует ВОЗ. Напротив, при использовании системы Глисона, которая учитывает не только самый распространенный компонент в опухоли, но и второй по распространенности, получена достоверная связь с показателями послеоперационной выживаемости больных, что делает данную систему градации перспективной для применения в диагностике протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

Ключевые слова: поджелудочная железа, рак, выживаемость, опухоль, метастазы, диагностика.

Рак поджелудочной железы, гистологически представленный в 75-85% случаев протоковой аденокарциномой (ПАК ПЖ), является одной из самых злокачественных опухолей пищеварительного тракта [3]. В 2010 году заболеваемость раком поджелудочной железы в общей структуре онкологической заболеваемости в России составила 12% [1], в западных странах этот показатель в среднем равен 13% [8]. Среди прогностических факторов ПАК ПЖ особо значимые следующие: стадия опухоли, радикальность проведенной операции [2,7,13], степень

злокачественности (grade) – показатель, основанный на оценке морфологических характеристик опухоли, таких как степень ядерного полиморфизма, количество митозов в 10 репрезентативных полях зрения (РПЗ), содержание муцина в цитоплазме опухолевых клеток [10]. В последние годы уделяется немало внимания биологическим характеристикам опухоли – показателям пролиферации и апоптоза [12], мутациям различных регуляторных генов [11]. Следует отметить, что выявление молекулярных изменений является дорогостоящим методом, поэтому поиск про-

гностических гистологических критериев в повседневной практике морфолога является актуальным.

Опубликованы работы, показывающие возможность успешного применения системы градации Глисона для ПАК ПЖ [4], но данный метод не распространён на её гистологические варианты. Учитывая неоднозначные литературные данные о роли гистологической злокачественности ПАК ПЖ и ее выраженности, целью данной работы является изучение прогностической значимости различных морфологических критериев в определении дифференцировки ПАК ПЖ.

Материалы и методы

Исследован операционный материал 47 больных (22 мужчин и 25 женщин) ПАК ПЖ, находившихся на лечении в Институте хирургии им. А.В. Вишневского с 2005 по 2012 годы. Возраст пациентов колебался от 47 до 76 лет, средний возраст составил 60 лет. У 24 пациентов к моменту оперативного вмешательства была диагностирована IIb (pT2-3, N1) стадия опухоли, у 19 – IIa (pT2-3, N0), у 3 – III (pT4), у 1 – Ib (pT2, N0). В 27 наблюдениях выявлены метастазы в регионарные лимфатические узлы (N1). Стадирование проводилось согласно 7 пересмотру меж-

дународной классификации TNM (UICC, 2010г). Для гистологического исследования использовались препараты, окрашенные гематоксилином и эозином (не менее 4-х срезов опухоли для каждого наблюдения). Просмотр препаратов осуществлялся с помощью системы сканирования гистологических препаратов 3D Histech. Ультраструктурные особенности ПАК ПЖ изучались с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии. Статистическая обработка полученных данных проводилась программой Statistica 6.0 (StatSoft, USA), значимым считали значения коэффициента $p \leq 0.05$. Выживаемость оценивалась методом Каплана Майера (1958). Полные данные по выживаемости были получены от 32 больных, к цензурированным отнесены 15 пациентов, из которых 10 были живы на момент исследования, и судьба 5 пациентов прослежена на протяжении 7, 12, 15 и 41 месяцев.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования оценка степени злокачественности ПАК ПЖ проводилась по системе, рекомендованной ВОЗ [6], согласно которой grade опухоли определяется аналогично степени ее гистологической дифференцировки (табл. 1).

Таблица 1

Степени злокачественности ПАК ПЖ (ВОЗ, 2010 г.)

Степень злокачественности (grade)	Дифференцировка желез	Продукция муцина	Количество митозов (на 10 РПЗ)	Ядерный полиморфизм
Grade 1	Высокодифференцированные	Интенсивная	≤ 5	Низкий
Grade 2	Умереннодифференцированные протоко-подобные и тубулярные структуры	Нерегулярная	6-10	Умеренный
Grade 3	Низкодифференцированные железистые, мукоэпидермоидные и плеоморфные структуры	Отсутствует	> 10	Значимый полиморфизм и увеличение ядра

Руководствуясь представленными выше критериями, к гистологическим структурам, соответствующим высокой степени дифференцировки, были отнесены опухоли, в которых преобладали высокодифференцированные протокоподоб-

ные железистые структуры различного размера, с близкими к округлым или неровными контурами базальной поверхности, неоднородными контурами апикальной поверхности, окруженные хорошо развитой десмопластической стромой.

Опухолевый эпителий однослойный, иногда с участками псевдостратификации. Клетки гиперхромные, вытянутой или кубической формы, цитоплазма эозинофильная, ядра округлой или овальной

формы расположены чаще центрально или базально, с четко различимыми ядрышками, полиморфизм обычно слабо выражен. Митотическая активность низкая – 1-5 митозов в 10 РПЗ (рис. 1).

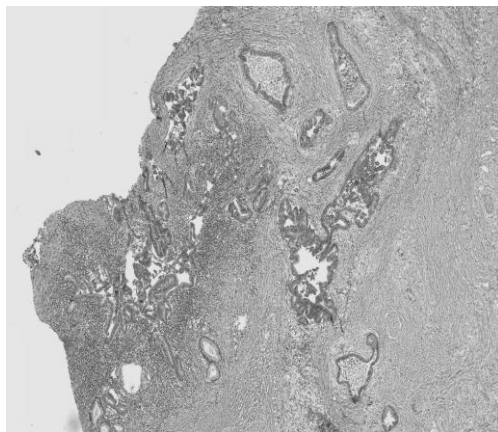


Рис. 1. Высоккодифференцированная протоковая аденокарцинома ПЖ, grade I.
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

К умереннодифференцированным опухолям отнесены ПАК ПЖ, в которых преобладали железистые структуры различного размера, чаще неправильной формы с явными признаками атипии, где также встречались папиллярные, крибровые или тубулярные структуры, небольшие пласты эпителиальных клеток. Эпителиальные клетки опухоли имели вытянутую, кубическую или уплощенную

форму, иногда с образованием псевдосочковых структур, выступающих в просвет желез, где часто в большом количестве встречались слущенные опухолевые клетки и слизь. Ядра располагались на любом уровне, полиморфизм более выражен. Хроматин в основном дисперсный, но иногда с крупными глыбками, ядрышки четко различимы. Количество митозов – 6-10 на 10 РПЗ (рис. 2).

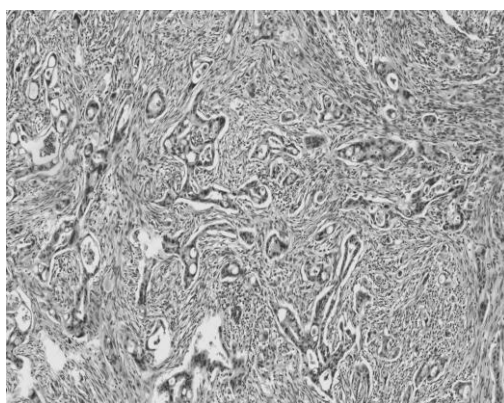


Рис. 2. Умереннодифференцированная протоковая аденокарцинома ПЖ, grade II
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

К опухолям с низкой степенью дифференцировки были отнесены ПАК ПЖ, архитектурно представленные пластами из недифференцированных клеток, или разрозненными группами клеток с отдельно лежащими клетками, а также ПАК с мелкими железистоподобными структурами, клетки которых обладали выраженной степенью атипии и полиморфизма. Цитоплазма опухолевых клеток в основном оксифильная, иногда с содержанием

крупных оптически пустых вакуолей. Ядра уродливые различных размеров и формы, хроматин с крупными глыбками или полностью конденсированный. Опухолевые клетки обладали высокой митотической активностью (10 и более митозов в 10 РПЗ), встречались атипические митозы. В некоторых случаях встречались анаплазированные участки, которые не превышали 20% площади всех опухолевых структур (рис. 3).

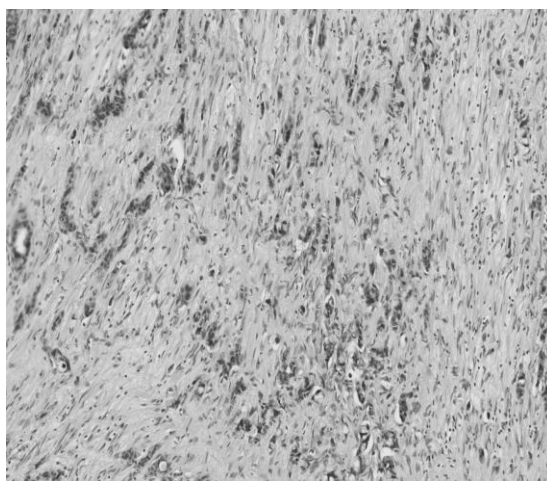


Рис. 3. Низкодифференцированная протоковая аденокарцинома ПЖ, grade III. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

В проведенном исследовании степень дифференцировки ПАК ПЖ оценивалась не только на светооптическом, но и на электронно-микроскопическом уровне. При высокой степени дифференцировки ПАК ПЖ псевдожелезистые структуры были образованы, в основном, призматическими опухолевыми клетками, на апикальном полюсе которых выявлялись микроворсинки. Ядра клеток с признаками умеренного полиморфизма располагались в базальной части. В цитоплазме обнаруживались гранулы муцина, немногочисленные митохондрии с нарушенной ориентацией крист и слабо развитая гранулярная цитоплазматическая сеть (рис. 4). Межклеточные соединения были представлены интердигитациями, строма опу-

холи – фибробластами, находящимися в разной степени функциональной активности, тучными клетками, единичными макрофагами и капиллярами с активным эндотелием (большое количество микровезикул, цитоплазматических выростов). Анапластический компонент в этой группе опухолей обнаружен не был.

По мере уменьшения степени дифференцировки ПАК ПЖ был отмечен более выраженный ядерный полиморфизм. Ядра, как правило, имели сложную, причудливую конфигурацию, выглядели сегментированными. Нуклеоплазма нередко выглядела оптически просветленной с глыбками хроматина различной величины. Опухолевые клетки, образующие псевдожелезистые структуры, чаще были

кубическими или уплощенными с небольшим количеством гранул муцина в цитоплазме или без них, с небольшим количеством митохондрий и отдельными профилями гранулярной цитоплазматической сети. Клеточные контакты типа интердигитаций были единичны, в основном, имели место прямые межклеточные контакты. Отличительной особенностью от предыдущей группы опухолей являлось наличие анапластического компонента, выраженного в большей или меньшей степени, и представленного крупными

клетками с ядерным полиморфизмом и скудной цитоплазмой с единичными гетерогенными митохондриями и профилями гранулярной цитоплазматической сети, а также фибробластоподобными клетками удлинённой формы с изменёнными ядрами, умеренно развитой гранулярной цитоплазматической сетью. Между этими клетками отмечено небольшое количество (иногда отсутствие) волокнистого основного или межклеточного вещества (рис. 5).

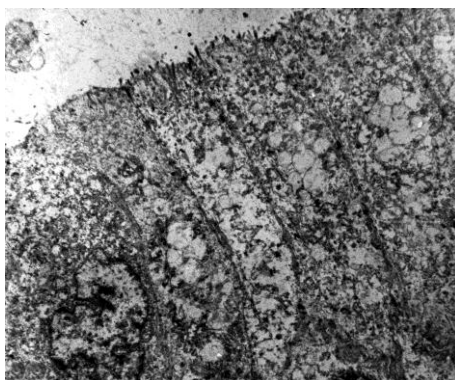


Рис. 4. Высокодифференцированная протоковая аденокарцинома поджелудочной железы. Муцинпродуцирующие опухолевые эпителиоциты. Гранулы муцина в клетках, на апикальном полюсе – единичные изменённые микроворсинки Ув. 9000

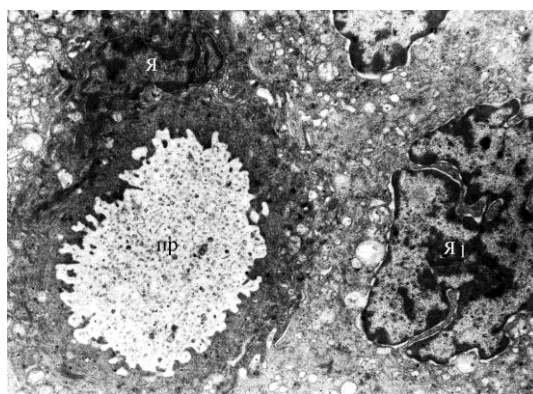


Рис. 5. Псевдожелезистая структура. Пр – просвет железы; Я – изменённое ядро опухолевой эпителиальной клетки; Я₁ – изменённое ядро недифференцированной клетки. Ув. 12000

На втором этапе исследования степень злокачественности ПАК ПЖ была оценена с помощью системы градации Глисона, предложенной в 1966 г. американским исследователем D.F. Gleason [9] для определения градации аденокарциномы предстательной железы. В связи с тем, что большинство ПАК ПЖ содержит участки различной дифференцировки, следует считать возможным применение к ней данной системы. Согласно шкале Глисона, все участки аденокарциномы оцениваются в баллах от 1 до 5, затем суммируется са-

мый распространенный компонент и второй по распространенности. Учитывая, что структуры, которые оцениваются в 1 и 2 балла в большей степени соответствуют диспластическим изменениям протокового эпителия - панкреатической интраэпителиальной неоплазии (PanIN-2 и PanIN-3), их нецелесообразно использовать для оценки степени злокачественности инвазивной ПАК. В результате были получены различные варианты гистологической дифференцировки ПАК ПЖ, основанные на значении суммы Глисона (рис. 6-9).

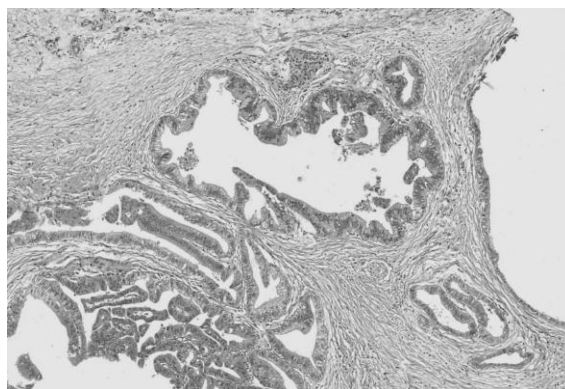


Рис. 6. Протоковая аденокарцинома ПЖ, сумма Глисона 3+3, grade I.
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

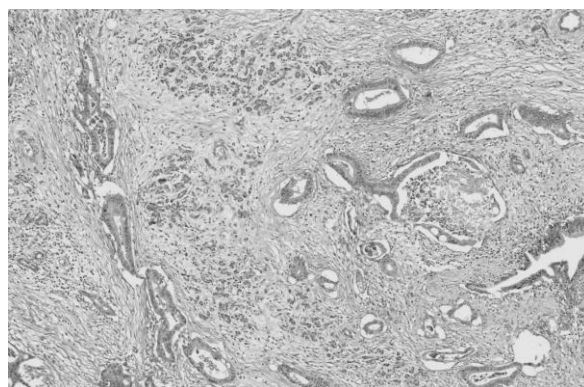


Рис. 7. Протоковая аденокарцинома ПЖ, сумма Глисона 3+4, grade II.
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

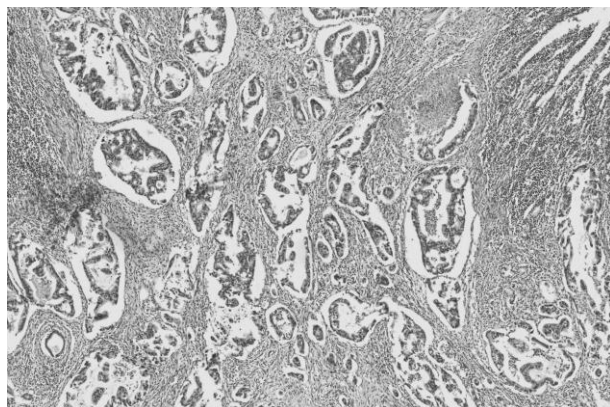


Рис. 8. Протоковая аденокарцинома ПЖ, сумма Глисона 4+4, grade III.
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

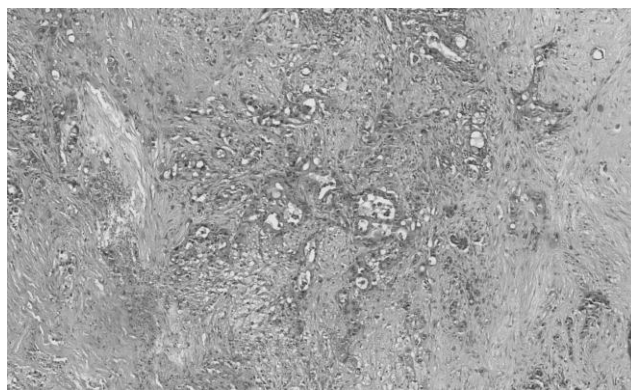


Рис. 9. Протоковая аденокарцинома ПЖ, сумма Глисона 4+5, grade III.
Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

На третьем этапе исследования пациенты были разделены на 2 группы по признаку наличия или отсутствия в опухоли анапластического компонента, который характеризуется присутствием крупных недифференцированных плеоморфных или веретеновидных клеток с уродливыми ядрами, большим количеством митозов (Рис.10). Согласно рекомендациям ВОЗ, ПАК ПЖ содержащие более 20% анапластического компонента, выделяются в отдельный гистологический тип анапластических или недифференцированных карцином, неблагоприятный прогноз при которых отмечен многими авторами

[14]. В проведенном исследовании группа больных, имеющих анапластический компонент в опухоли, выделялась независимо от его площади, однако ни в одном случае она не превышала 20%.

Для того чтобы оценить объективность применяемых систем градации, полученные данные сравнивались с показателями выживаемости пациентов (табл. 2). Медиана выживаемости больных после выполнения радикальной операции составила 13 мес., двухлетняя выживаемость не превышала 19%, что согласуется с данными других авторов [2, 5] (рис. 11).

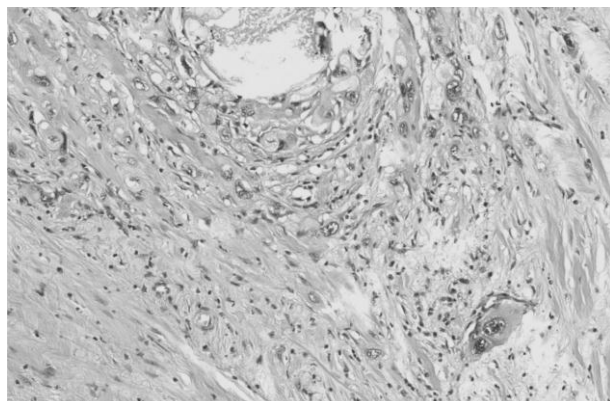


Рис. 10. Анапластические клетки в ПАК ПЖ. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x200

Таблица 2

Клинико-морфологические характеристики опухоли в связи с данными послеоперационной выживаемости больных

Критерии	Количество случаев	%	Значения коэффициента p
Пол			
Мужчины	22	47	0,4
Женщины	25	53	
Возраст			
≤60	25	47	0,4
≥60	22	53	
Клиническая стадия			
Ib	1	2	0,5
IIa	19	41	
IIb	24	51	
III	3	6	
Морфологическая стадия (pT)			
pT2	3	1,5	0,27
pT3	41	87	
pT4	3	1,5	
Наличие метастазов в лимфатические узлы (pN)			
pN0	20	43	0,5
pN1	27	57	
Grade (WHO)			
I	9	19	0,1
II	26	55	
III	12	26	
Grade (Glison)			
I	7	15	0,04
II	24	51	
III	16	34	
Анапластический компонент (A)			
Присутствует (A+)	18	38	0,032
Отсутствует (A-)	29	62	

При оценке гистологической злокачественности с использованием критериев системы ВОЗ большинство исследованных опухолей отнесено в категорию умеренно дифференцированных новообразований (grade II), что связано с неоднородностью структуры ПАК ПЖ. В одной и той же опухоли присутствовали железы различной степени дифференцировки, тогда как оценка, согласно примененной данной системе градации, производилась по преобладающему компоненту. При сравнении данных послеоперационной выживаемости в 3-х группах (grade I, II и III), не было выявлено достоверных статистических различий (коэффициент $p=0,1$). Кроме того, существуют исследования, указывающие на то, что данная

система в значительной степени субъективна и достаточно трудно воспроизводима. [15].

В результате применения системы Глисона возрастает количество пациентов в группах с более высокой степенью злокачественности опухоли, по сравнению с низкой и умеренной. При сопоставлении данных выживаемости больных и степени злокачественности, определенной по данной системе, получены статистически достоверные различия в группах с grade I, grade II и grade III ($p=0.04$). Ранее Adsay и соавт., изучив применение модифицированной системы Глисона на 112 больных ПАК ПЖ, получили прямую корреляцию между grade и сроками жизни больных после радикальной операции [4].

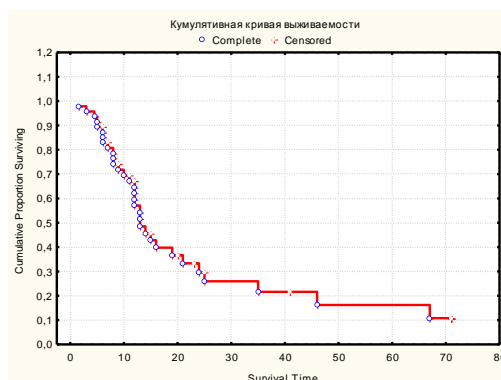


Рис. 11. Выживаемость больных раком головки поджелудочной железы после радикального хирургического лечения (Kaplan-Meier)

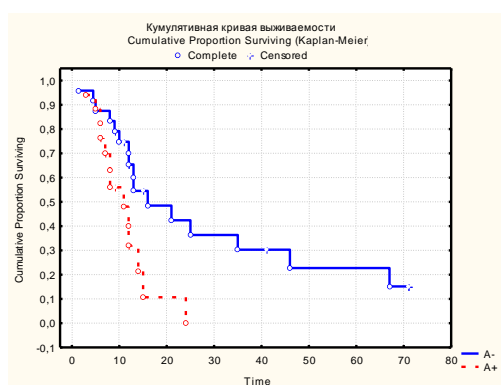


Рис. 12. Послеоперационная выживаемость больных ПАК ПЖ в зависимости от наличия в опухоли анапластического компонента

Наибольший интерес представляют результаты сопоставления послеоперационной выживаемости больных в 2 группах, выделенных по признаку наличия или отсутствия анапластического компонента в опухоли (А+ и А-). В результате сопоставления были получены статистически значимые различия ($p=0.03$). Кумулятивная кривая выживаемости в зависимости от А-критерия представлена на рисунке 12.

Заключение

Полученные результаты показывают, что такие клинико-морфологические характеристики как пол, возраст пациентов, стадия и размер первичной опухоли не влияют на послеоперационную выживаемость. Не получено достоверной корреляции между выживаемостью больных и степенью злокачественности опухоли (grade), определенной по степени дифференцировки, как рекомендует ВОЗ. Напротив, при использовании системы Глисона, которая учитывает не только самый распространенный компонент в опухоли, но и второй по распространенности, получена достоверная связь с показателями послеоперационной выживаемости больных, что делает данную систему градации перспективной для применения в диагностике ПАК ПЖ. Наибольшую прогностическую значимость, как видно из результатов исследования, представляет наличие в опухоли анапластического компонента, вне зависимости от его площади и морфологических характеристик других опухолевых структур, что позволяет усовершенствовать применяемую систему определения степени злокачественности ПАК ПЖ.

Литература

1. Давыдов М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2010 г / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель. – М., 2012.
2. Отдаленные результаты лечения протоковой аденокарциномы головки поджелудочной железы: факторы, влияющие на прогноз течения заболевания / В.А. Кубышкин [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2004. – Т. 9, №1. – С. 129-133.
3. Патютко Е.И. Хирургия рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны / Е.И. Патютко, А.Г. Котельников. – М.: Медицина, 2007.
4. A proposal for a new and more practical grading scheme for pancreatic ductal adenocarcinoma / N.V. Adsay [et al.] // *Am J Surg Pathol*. – 2005. – Vol. 29, №6. – P. 724-33.
5. Guidelines for the management of patients with pancreatic cancer periampullary and ampullary carcinomas / D. Alderson [et al.] // *Gut*. – 2005. – Vol. 54 (Suppl. 5). – P. 1-16.
6. World Health Organization international histological classification of tumors of the Digestive System / F.T. Bosman [et al.]. – 4th ed. – Lyon, 2010.
7. Esposito I. Definition of Microscopic Tumor Clearance (R0) in Pancreatic Cancer Resections / I. Esposito, A.M. Schlitter // *Cancers*. – 2010. – Vol. 2. – P. 2001-2010.
8. Ghaneh P. Biology and management of pancreatic cancer / P. Ghaneh, E. Costello, J. Neoptolemus // *Gut*. – 2007. – Vol. 56, №8. – P. 1134-1152.
9. Gleason D. Classification of prostate carcinomas / D. Gleason // *Cancer Chemother*. – 1966. – Vol. 50. – P. 125-128.
10. The grade of pancreatic ductal carcinomas is an independent prognostic factor and is superior to the immunohistochemical assessment of proliferation / J. Luttges [et al.] // *J Pathol*. – 2000. – Vol. 191. – P. 154-161.
11. Navas C. 3EGF Receptor Signaling Is Essential for K-Ras Oncogene-Driven Pancreatic Ductal Adenocarcinoma / C. Navas, I. Hernández-Porras, A.J. Schuhmacher // *Cancer cell*. – 2012. – Vol. 22, № 3. – P. 318.
12. Molecular Pathology of Primary and Metastatic Ductal Pancreatic Lesions / B.A. Rugerri [et al.] // *Cancer*. – 1997. – Vol. 40. – P. 418.

13. Pancreatic cancer: basic and clinical aspects / F. Eckel [et al.] // Gastroenterology. – 2005. – Suppl.128. – P. 1606-1625.
14. Anaplastic pancreatic cancer: Presentation, surgical management, and outcome / O. Strobel [et al.] // Surgery. – 2011. – Vol. 149, № 2. – P. 200-208.
15. Nuclear DNA distribution pattern of the parenchymal cells in adenocarcinomas of the pancreas and in chronic pancreatitis. A study of archival specimens using both image and flowcytometry / A.R. Weger [et al.] // Gastroenterology. – 1990. – Vol. 99. – P. 237-242.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF DEGREE HISTOLOGICALLY MALIGNANT DUCTAL PANCREATIC ADENOCARCINOMA

*E.M. Filippova, O.V. Pakhlina, I.A. Chekmareva, A.V. Kochatkov,
A.N. Lebedeva, E.V. Kravchenko*

The article presents the results of a study of 47 patients (22 males and 25 females) PAK prostate treated at Institute of Surgery. A.V. Vishnevsky from 2005 to 2012. The age of patients ranged from 47 to 76 years, mean age was 60 years. In 24 patients at the time of surgery was diagnosed IIb (pT2- 3, N1) tumor stage, 19 - IIa (pT2-3, N0), have 3 - III (pT4), from 1 - Ib (pT2, N0). In 27 observations revealed metastases to regional lymph nodes (N1). Staging was performed according to the revision of the International Classification of 7 TNM (UICC, 2010). The results also show that such clinical and morphological characteristics as gender, patient age, stage and tumor size did not affect the postoperative survival. No significant correlation between patient survival and tumor grade (grade), determined by the degree of differentiation, as recommended by WHO. In contrast, when using the Gleason system, which takes into account not only the most abundant component in the tumor, but also the second most common, obtained a significant correlation with postoperative survival rates, making this a promising grading system for use in the diagnosis of ductal adenocarcinoma of the pancreas.

Keywords: *pancreatic cancer, survival, tumor metastasis diagnosis.*

Паклина О.В. – д-р мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России.
123098, Москва, ул. Маршала Новикова, д. 23.