УДК: 618.11:611.018.7]-006-07:616-091.8

Гістологічні та імуногістохімічні особливості злоякісних епітеліальних і гранульозоклітинних пухлин яєчників

О. А. Савченко*[A,C,D], І. С. Шпонька[F], В. Р. Скорик[C,E], П. В. Савченко[B]

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Серед онкологічних захворювань рак яєчників – у першій десятці за поширеністю, посідаючи 7 місце, та в першій п'ятірці за летальністю, посідаючи 4 місце. Ці факти пояснюються відсутністю специфічних клінічних проявів, що зумовлює діагностування процесу на пізніх його стадіях із часто метастатичним ураженням, а також постає проблема точної верифікації діагнозу.

Мета роботи – формування комплексу диференційно-діагностичних морфологічних критеріїв верифікації злоякісних новоутворень яєчників, спираючись на останні міжнародні класифікації та особливості практичної онкоморфології в Україні.

Матеріали та методи. Ретроспективний аналіз 115 злоякісних новоутворень яєчників, серед них – 67 випадків карцином різних видів і 48 випадків гранульозоклітинних пухлин, передбачав оцінювання гістологічних, імуногістохімічних особливостей із наступним статистичним опрацюванням результатів.

Результати. У всіх групах карцином і гранульозоклітинних пухлин виявили сукупності різних гістологічних ознак, а також їхні комбінації між собою та з особливостями імунофенотипів досліджених новоутворень. Ці дані дали змогу говорити про діагностичне значення кожного показника для злоякісних пухлин яєчників, що досліджували. Серед гістологічних характеристик найбільше значення мали наявність у відсотковому співвідношенні макро- та мікропапіл, фолікулярних/гландулярних структур, ступінь виразності поліморфізму, показник мітотичної активності, осередки некрозу. Серед панелі імуногістохімічних антитіл – фракції цитокератинів (панцитокератин AE1/AE3, цитокератин 7, цитокератин 20), характер забарвлення на p53, WT-1, EMA та віментин, проте $p > 0,05$ за всіма показниками.

Висновки. Аргументована необхідність використання залежно від комбінації гістологічних критеріїв специфічної панелі ІГХ антитіл, що підтверджено статистично. Для диференціації між НСК і ВСК ключовими є характер папілярних структур, мітотична активність, поліморфізм та експресія p53. ГрПЯ мали особливий фенотип Vimentin+/ Calretinin+/ PanCK+ (фокально).

Ключові слова: рак яєчників, гранульозо-клітинні пухлини, гістологічні особливості пухлини, імуногістохімія.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 2(46). – С. 155–163

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.2.177078

***E-mail:** savchenko.oksana21@gmail.com

Гистологические и иммуногистохимические особенности злокачественных эпителиальных и гранулезоклеточных опухолей яичников

О. А. Савченко, И. С. Шпонька, В. Р. Скорик, П. В. Савченко

Среди онкологических заболеваний рак яичников входит в первую десятку по распространенности, занимая 7 место, и в первую пятерку по летальности, занимая 4 место. Эти факты объясняются отсутствием специфических клинических проявлений, что обусловливает диагностирование процесса на поздних его стадиях часто с наличием метастатического поражения, а также имеет место проблема достоверной верификации диагноза.

Цель работы – формирование комплекса дифференциально-диагностических морфологических критериев верификации злокачественных новообразований яичников, опираясь на последние международные классификации и особенности практической онкоморфологии в Украине.

Материалы и методы. Ретроспективный анализ 115 злокачественных новообразований яичников, среди которых 67 случаев карцином различных видов и 48 случаев гранулезоклеточных опухолей, включал оценку гистологических, иммуногистохимических особенностей с последующей статистической обработкой полученных результатов.

Результаты. Во всех группах карцином и гранулезоклеточных опухолей установлены совокупности различных гистологических признаков, разнообразные комбинации их между собой и с особенностями иммунофенотипа исследованных новообразований. Эти данные позволили говорить о диагностическом значении каждого показателя для исследованных злокачественных опухолей яичников. Среди гистологических характеристик весомое значение имели наличие в процентном соотношении макро- и микропапилл, фолликулярных/гландулярных структур, степень выраженности полиморфизма, показатель митотической активности, очаги некроза. Среди панели иммуногистохимических антител – фракции цитокератинов (панцитокератин AE1/AE3, цитокератин 7, цитокератин 20), характер окраски на p53, WT-1, EMA и виментин, однако $p > 0,05$ по всем показателям.

Выводы. Аргументирована необходимость использования в зависимости от комбинации гистологических критериев специфической панели ИГХ антител, что подтверждено статистически. Для дифференциации между НСК и ВСК ключевыми являются характер папиллярных структур, митотическая активность, полиморфизм и экспрессия p53. ГрПЯ имели особый фенотип Vimentin+ / Calretinin+ / PanCK+ (фокально).

Ключевые слова: рак яичника, гранулезоклеточная опухоль, гистологические особенности опухоли, иммуногистохимия.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 2(46). – С. 155–163

Key words:
ovarian cancer, granulosa cell tumors, histological type of neoplasm, immunohistochemistry.

Pathologia
2019; 16 (2), 155–163

Histological and immunohistochemical features of the ovarian malignant epithelial tumors and granulosa cell tumors

O. A. Savchenko, I. S. Shponka, V. R. Skoryk, P. V. Savchenko

Among cancers the ovarian cancer is one of the top ten in prevalence occupying the 7th place and one of the first five in mortality occupying the 4th place. These facts are explained, on the one hand, by the absence of specific clinical manifestations, which causes the diagnosis of the process at its later stages with a frequent metastatic lesion. On the other hand, there is a problem of reliable verification of the diagnosis.

The purpose of the study is to improve the complex of differential diagnostic morphological criteria for malignant neoplasms of the ovaries verification, which is based on the latest international classifications and features of practical oncomorphology in Ukraine.

Methods. Retrospective analysis of 115 malignant ovarian tumors (where 67 cases of different types carcinomas and 48 cases of granulosa cell tumor were included) contained assessment of histological, immunohistochemical characteristics followed by statistical processing of the results.

Results. Received data made it possible to state the diagnostic value of each feature for the studied malignant tumors of the ovaries. Among the histological characteristics the most important were: macro- and micropapillas, follicular / glandular structures, polymorphism degree, mitotic activity, cell necrosis. Among the panel of immunohistochemical antibodies the fractions of cytokeratins (pancytoceratin AE1 / AE3, cytokeratin 7, cytokeratin 20), p53, WT-1, EMA and vimentin were mentioned. However, P > 0.05 for all the indicators.

Conclusions. The necessity of using is based on a combination of histological criteria for a specific panel of IgG antibodies, which is statistically confirmed. Presence of papillary structures, mitotic activity, polymorphism and expression of p53 are clue for differentiation between HGSC and LGSC. Granulosa cell tumors had a special phenotype Vimentin + / Calretinin + / PanCK + (focally).

Захворюваність на рак яєчників (РЯ) посідає 6 місце за показниками світової статистики. В Україні, за даними канцер-реєстру, захворюваність на РЯ посідає 7 місце [3]. Окрім чималої поширеності, необхідність точної верифікації процесу та обрання відповідної тактики лікування аргументована наступним. По-перше, ці новоутворення виявляють частіше в жінок репродуктивного та працездатного віку, а саме 4 та 5 декади життя. По-друге, РЯ потребує здійснення диференційної діагностики не тільки за гістологічними підтипами, але й із новоутвореннями герміногенного походження, серед них найчастіше – із гранульозоклітинними пухлинами (ГрПЯ). Хоча останні становлять лише 1–2 % від загальної кількості новоутворень яєчників, поділяючись на 2 гістологічні підтипи (пухлини дорослого (95 %) та ювенільного (5 %) типу), вони мають суттєві відмінності за прогнозом і тактикою лікування [5,6,10].

Ускладнює раннє встановлення діагнозу відсутність специфічних клінічних проявів, що набуває особливого значення для процесів злоякісного ґенезу. Саме тому найчастіше верифікація відбувається на пізніх стадіях із наявним гематогенним, лімфогенним поширенням та/чи канцероматозним ураженням очеревини. Прямим наслідком цього є зменшення виживаності пацієнток. Так, Україна посідає 4 місце у світі за показниками летальності від РЯ: кожна друга пацієнтка помирає впродовж першого року з часу встановлення діагнозу [7,8,11,14].

Мета роботи

Формування комплексу диференційно-діагностичних морфологічних критеріїв верифікації злоякісних новоутворень яєчників, спираючись на останні міжнародні класифікації та особливості практичної онкоморфології в Україні.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективний аналіз 67 випадків РЯ і 48 випадків ГрПЯ післяопераційного матеріалу жінок, які звернулися в морфологічний відділ діагностичного центру ООО «Аптеки медичної академії» м. Дніпра за період із 2014 до 2017 р. для здійснення імуногістохімічного (ІГХ) дослідження з метою остаточної верифікації діагнозу. Виконали аналіз морфологічних (гістологічних та імуногістохімічних) характеристик злоякісних новоутворень яєчників різного гістогенезу згідно з класифікацією ВООЗ новоутворень жіночої репродуктивної системи 2014 р.

За гістологічною будовою РЯ поділяють на серозні карциноми (СК), муцинозні карциноми (МК), ендометріоїдні карциноми (ЕК), світлоклітинні карциноми (СвК), злоякісні пухлини Бреннера (ЗПБ), серозно-муцинозні карциноми (СМК) та недиференційовані карциноми (НК). Особливої уваги потребує так зване «повернення» СМК статусу нозологічної одиниці [13].

Дослідили 51 (76,8 %) випадок СК, 3 (4,35 %) МК, 1 (1,45 %) СМК, 6 (8,7 %) ЕК, 4 (5,8%) СвК і 2 (2,9 %) випадки НК. Серед СК розрізняли високодиференційовані СК, тип I (ВСК – 5 (9,2 %) випадків) і низькодиференційовані СК, тип II (НСК – 46 (90,8 %) випадків). У дослідження не включили жодного випадку неінвазивної серозної пухлини яєчників. Усі спостереження ГрПЯ (48 випадків) за гістологічною будовою класифіковані як ГрПЯ дорослого типу.

Вік пацієнток із діагнозом злоякісна епітеліальна пухлина яєчників – у діапазоні від 18 до 76 років із середнім значенням 52,31 ± 13,07 року, медіана – 53 роки. Пацієнтки, яким встановлено діагноз ГрПЯ, були віком від 34 до 75 років, середнє значення – 52,08 ± 10,25 року, медіана – 52 роки.

Для ІГХ дослідження використовували формалін-фіксовані та парафін-залиті зразки післяопераційного матеріалу. Імуногістохімічне дослідження

виконали за протоколами компанії Thermo Scientific (TS), США. У зрізах завтовшки 4 мкм за допомогою системи візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) та DAB Quanto Chromogen (TS, США) виявляли антигени та фіксовані на них білкові ланцюги [1].

Первинна діагностична ІГХ панель включала антитіла до Pancytokeratin AE1/AE3 (PanCK), cytokeratin 7 (CK7), cytokeratin 20 (CK20), CA-125, EMA, p53, WT-1, vimentin, calretinin (TS, США). Титр антитіл добирали індивідуально для кожного маркера, використовуючи спеціальний розчин Antibody diluent, TS, США. Характеристики антитіл наведено в *таблиці 1*.

Реакції оцінили напівкількісним методом у не менше ніж 10 полях зору. Позитивною реакцією вважали наявність коричневого забарвлення в понад 10 % пухлинних клітин із вираженою та помірно вираженою специфічною реакцією для кожного маркера. Діагноз встановлювали двоє досвідчених морфологів незалежно один від одного, спираючись на сучасні класифікації ВООЗ [2,14].

Дані досліджень статистично опрацювали у програмі Statistica (серійний номер AGAR 909 E415822FA) із використанням варіаційних методів і непараметричного критерію χ^2 Пірсона.

Таблиця 1. Панель первинних антитіл

Первинні антитіла	Клон	Розведення	Локалізація реакції
PanCK	клон AE1/AE3	1:50	Мембрана та цитоплазма
Vimentin Ab-2	клон sp20	1:200	Мембрана та цитоплазма
CK7	клон RCK105	1:100	Мембрана та цитоплазма
CK20	клон Ks 20.8	1:100	Мембрана та цитоплазма
CA-125	клон Ab1	1:100	Мембрана та цитоплазма
EMA Ab-3	клон E29	1:250	Мембрана та цитоплазма
Calretinin	клон sp13	1:100	Цитоплазма
WT-1	клон 6F-H2	1:100	Ядро
p53	клон sp5	1:200	Ядро

Результати

У здійсненому дослідженні в усіх групах РЯ та ГрПЯ визначили певні сукупності гістологічних структур із різними їхніми комбінаціями між собою та з особливостями будови ядер, характеристик стромального компонента (*табл. 2*).

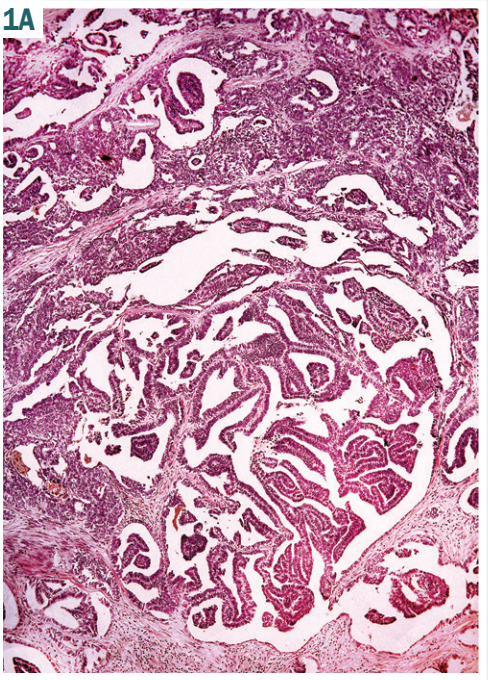
ВСК характеризувалися передусім наявністю структур із папілярним розгалуженням (*макропапіли*, що займали переважно до половини тканини пухлини (ТП), та *мікропапіли*, що становили близько однієї третини ТП) (*рис. 1А*), що були поєднані з полями із тубуло-залозистою, кістозною та солідною будовою з малою кількістю фіброзно-судинного компонента. Зазвичай макропапіли були оточені пустими просторами, що не вистелені епітелієм. Для всіх новоутворень цієї групи (100 %, n = 5) характерні сосочки, що зливалися, формуючи місцями структури, які схожі на залози. До 20% ТП в одному випадку ВСК (20,0 %) визначили як плоскоклітинне диференціювання. Треба наголосити, що у 3 із 5 ВСК (60,0 %) спостерігали асоціацію із серозною пограничною пухлиною. Псаммомні тільця виявляли лише у 2 із 5 (40,0 %) досліджуваних новоутворень (*рис. 1Б*). Осередки некрозів у ТП не визначили.

Морфологія пухлинних клітин усіх досліджених ВСК – округла форма з мізерною кількістю цитоплазми, а власне ядра були однорідними з чіткими контурами та мали відносно невеликий розмір, округлу форму та дрібні помітні одне чи кілька ядерець. У всіх спостереженнях виявили легку та помірну атипію пухлинних клітин у не менше ніж 90 % ТП. Мітотична активність представлена 2,20 ± 0,73 фігури мітозу на 10 полів зору (п/зр).

НСК характеризувалися чергуванням папілярних, залозистих, криброзних і солідних ділянок у різному відсотковому співвідношенні: переважно виявляли мікропапілярні (майже половина ТП) та солідні структури (майже п'ята частина ТП), а макропапіли мали випадковий характер (менше ніж 10 % ТП). У майже чверті спостережень із солідними масами пухлинних

Таблиця 2. Гістологічні ознаки різних типів злоякісних новоутворень яєчників, оцінені у площі однієї пухлини, %

Гістологічні ознаки	СК		МК	ЕК	СвК	НК	ГрПЯ
	ВСК	НСК					
Епітеліальний компонент							
макропапіли	≤45 %	≤10 %	≤5 %	≤2 %	≤15 %	–	–
мікропапіли	≤35 %	≤50 %	≤40 %	≤35 %	≤25 %	≤5%	–
макрофолікули	–	–	–	–	–		≤7 %
мікрофолікули	–	–	–	≤10 %	–	≤5 %	≤30 %
трабекулярно-залозисті структури	≤10 %	≤15 %	≤55 %	≤55 %	≤5 %	≤10 %	≤50 %
тубуло-кістозні структури	≤5 %	≤7 %	–	≤5 %	≤60 %	≤15 %	–
солідні структури	≤ 5	≤18 %	–	≤5 %	≤5 %	≤55 %	≤3 %
особливості пухлинних клітин	округлі, цитоплазма мізерна	поліморфні	великі, цитоплазма рясна, еозинофільна	високі стовпчасті	полігональні, цитоплазма прозора	поліморфні, гіперхромні	мономорфні, прозорі
ядра	невеликі, мономорфні	малі, поліморфні, гіперхромні	гіперхромні	округлі та овальні, гіперхромні	полімо рфні	поліморфні, гіперхромні	відносно однорідні, наявність канавок
ядерця	–	великі, помітні	–	–	великі, помітні	–	–
мітотична активність на 10 п/зр	2,20 ± 0,73	4,67 ± 1,92	2,33 ± 0,69	1,33 ± 0,31	2,00 ± 0,11	5,00 ± 0,78	1,17 ± 0,59
Стромальний компонент	добре виражений, щільний	«ніжний» фіброволокнистий	«ніжний» фіброволокнистий	не виражений, фіброволокнистий	виражений гіалінізований, фіброволокнистий	не виражений, фіброволокнистий	фібробласти, текаклітини



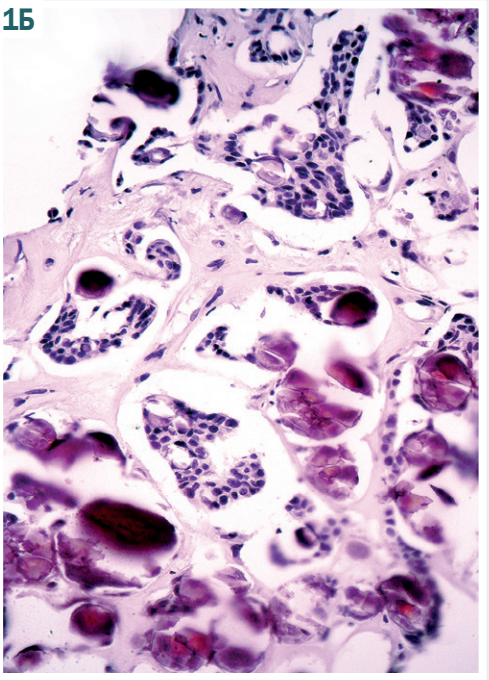
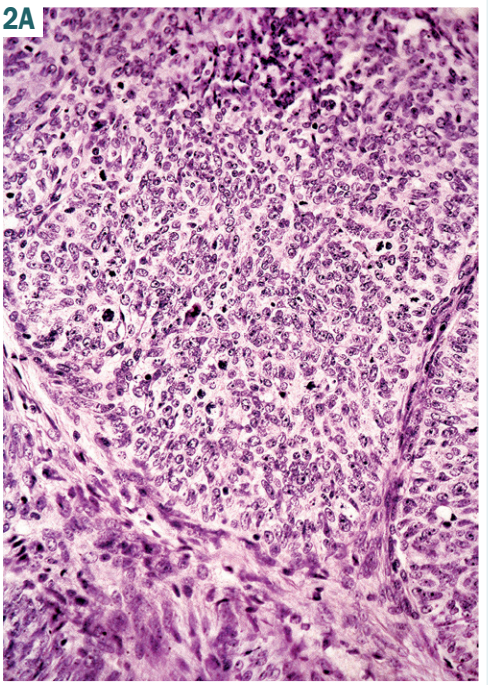


Рис. 1. Випадки високодиференційованих серозних карцином, забарвлення гематоксиліном та еозином.

А: Мікропапіли та макропапіли, що займають майже всю площу тканини пухлини, ×100.

Б: Псаммомні тільця, що утворюють до чверті тканини пухлини. ×400.



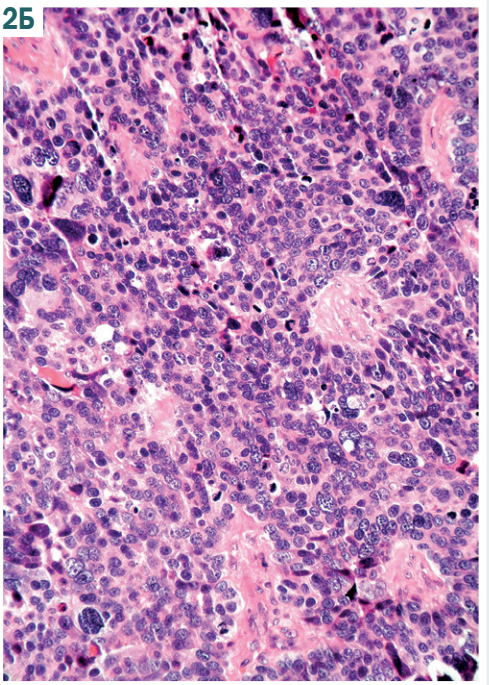


Рис. 2. Випадки низькодиференційованої серозної карциноми, забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200.

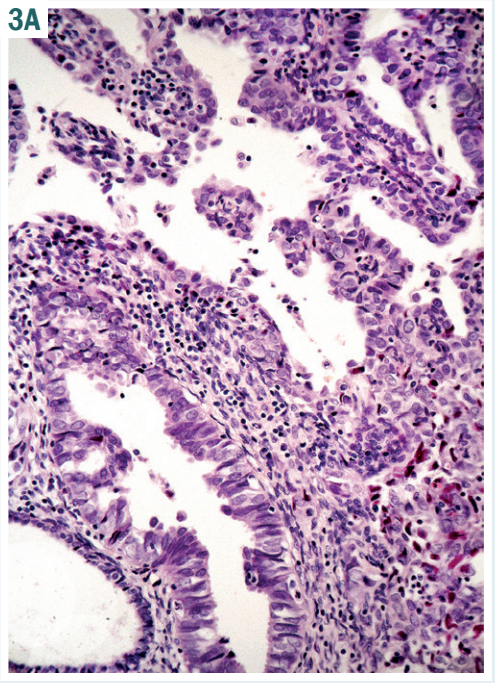
А: Солідні структури, що займають понад половину площі тканини пухлини, легко помітні ядерця та мітотичні фігури.

Б: Фолікулярні структури, що нагадують тільця Кал–Екснера та утворені пухлинними клітинами з вираженим ступенем поліморфізму та високою мітотичною активністю.

клітин (12 із 46 випадків, 26,1 %), останні утворювали щілинні простори.

Цитологічно: в усіх випадках НСК спостерігали гіперхромні, поліморфні ядра, що мали здебільшого великі помітні кілька ядерець. У кожному п'ятому спостереженні (9 із 46 випадків, 19,6 %) виявили зони некрозів, котрі мали осередковий характер (до 15 % ТП). Кількість мітозів становила 4,67 ± 1,92 на 10 п/зр, що вдвічі більше цього показника у випадках ВСК. Псаммомні тільця не встановили в жодному випадку (*рис. 2*).

У всіх МК спостерігали переважання залозистих і тубулярних структур, що утворювали не менше ніж 55 % ТП. Осередки папілярної будови виявляли в усіх спостереженнях, але макропапіли мали випадковий характер: не більше ніж 5 % пухлинних клітин. Цікаво, що у 2 із 3 МК (66,7 %) спостерігали значну гетерогенність будови – з залученням усіх названих варіантів. Цитологічно: МК мали великі клітини зі збільшеними ядрами та рясною еозинофільною цитоплазмою, що нагадують інтестинальний епітелій. Кількість мітотичних фігур становила 2,33 ± 0,69 на 10 п/зр. Поліморфізм – від помірного до вираженого в межах однієї пухлини, але у всіх спостерігали перший його варіант. Між пухлинними клітинами визначили незначну



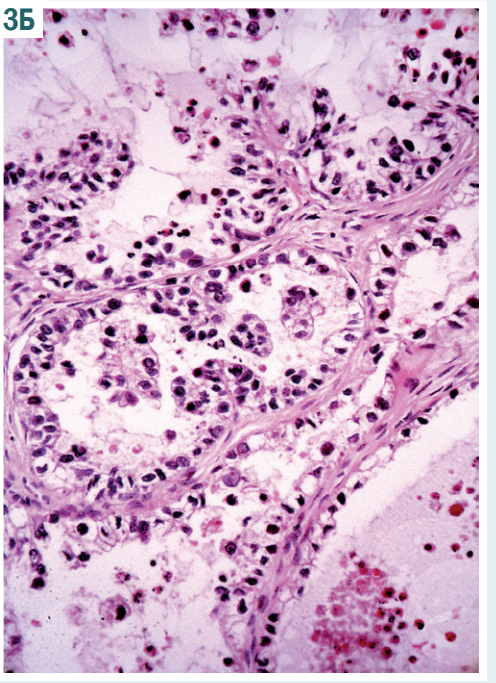
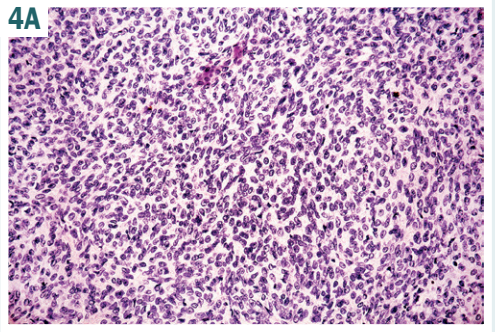
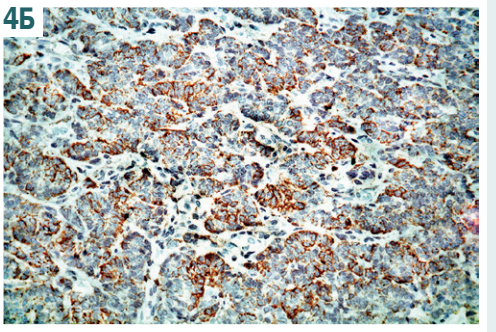


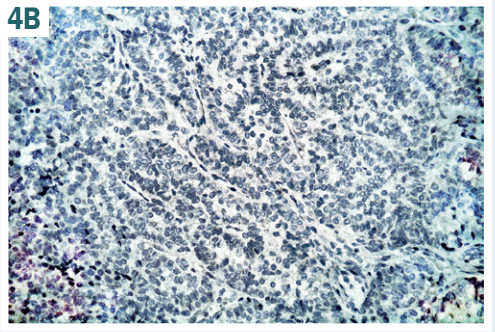
Рис. 3. Випадки раку яєчників, забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200.

А: Формування псевдопапілярних і криброзних структур в ендометріоїдній карциномі, епітелій стратифікований, витягнутий, без ознак наявності муцину.

Б: Формування псевдопапілярних структур у гніздоподібних утвореннях світлоклітинної карциноми, клітини кубоїдальної форми з вираженим поліморфізмом.







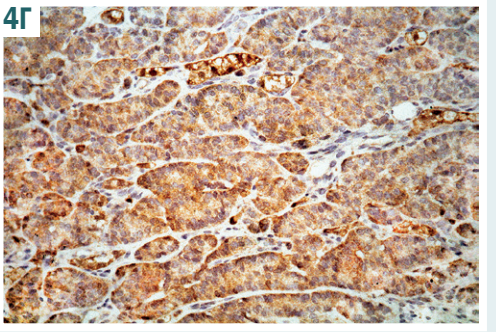


Рис. 4. Випадок гранульозоклітинної пухлини яєчника, ×200.

А: Перевага солідного типу росту мономорфних клітин зі світлими ядрами, утворення структур, що нагадують папіли, забарвлення гематоксиліном та еозином.

Б: Фокального типу «dot like» реакція із PanCK у майже половині пухлинних клітин.

В: Відсутність забарвлення на EMA із наявним внутрішнім контролем.

Г: Нерізко виражена експресія Calretinin у понад 75 % пухлинних клітин.

Б–Г: ІГХ-забарвлення, додаткове забарвлення гематоксиліном.

кількість строми з осередковими десмопластичними змінами, що займали не більше ніж 20 % ТП.

У нашому дослідженні СМК мала гістологічні ознаки серозної (мікропапіли, поодинокі макропапіли, трабекулярно-залозисті структури, стратифікація епітелію) та муцинозної (рясна цитоплазма, не визнається чітка апікальна границя, відсутні клітини типу келихоподібних) карциноми одночасно. Тобто епітеліальний компонент представлений клітинами типу ендоцервікальної слизової та серозного типу. Визначили також виражену лейкоцитарну інфільтрацію.

Усі досліджувані випадки ЕК характеризувалися наявністю малих залоз, різних за формою: округлих, овальних чи неправильної форми, які прилягали одна до одної («back-to-back» паттерн) та формували криброзні, папілярні (без фіброзно-судинної серцевини) та мікрофолікулярні структури, що виявляли у різних співвідношеннях із залозистим компонентом. Це співвідношення мало принципове значення під час встановлення ступеня диференціювання ЕК і мало лише допоміжний характер під час диференційно-діагностичного пошуку між ЕК і СК. У 3 із 6 випадків (50,0 %) спостерігали осередкове плоскоклітинне

Таблиця 3. Експресія ІГХ маркерів гістогенезу в різних типах злоякісних новоутворень яєчників, n

Пухлини	Pan CK	CK7	CK20	CA-125	WT-1	Vimentin	Calretenin	p53	EMA
Серозні карциноми (n = 51)	100 % (n = 51)	100 % (n = 51)	3,9 % (n = 2)	94,1 % (n = 48)	94,1 % (n = 48)	23,5 % (n = 12)	1,9 % (n = 1)	31,4 % (n = 16)	100 % (n = 51)
Муцинозні карциноми (n = 3)	100 % (n = 3)	–	100 % (n = 3)	100 % (n = 3)	–	–	–	–	100 % (n = 3)
Ендометриоїдні карциноми (n = 6)	100 % (n = 6)	100 % (n = 6)	–	66,7 % (n = 4)	–	66,7 % (n = 4)	50,0 % (n = 3)	–	100 % (n = 6)
Світлоклітинні карциноми (n = 4)	100 % (n = 4)	–	100 % (n = 4)	25,0 % (n = 1)	–	–	–	–	100 % (n = 4)
Недиференційовані карциноми (n = 2)	100 % (n = 2)	100 % (n = 2)	–	100 % (n = 2)	–	100 % (n = 2)	–	–	100 % (n = 2)
Гранульозоклітинні пухлини (n = 48)	41,7 % (n = 20)	–	–	–	4,2 % (n = 2)	100 % (n = 48)	93,8 % (n = 45)	–	–
p*	0,788	0,602	0,600	0,688	0,744	0,984	0,709	0,379	0,609

*: різниця вірогідна при p < 0,05.

диференціювання, що досить легко визначали: окрім пізнаваної будови становило не менше ніж 20 % ТП. В 1 із 3 названих пухлин спостерігали формування плоскоклітинних морул. Будова пухлинних клітин характеризувалася наявністю високих стовпчастих клітин із чіткими апікальними контурами та здебільшого витягнутими ядрами. Округлі ядра становили не більше ніж половину ТП. Мітотична активність – 1,33 ± 0,31, некрози не визначили (*рис. 3А*).

У всіх спостереженнях СвК виявили характерний тубуло-кістозний малюнок. Структура пухлин поділена тонкими фіброзно-судинними перетинками на кісти та гніздоподібні утворення з наявністю невеликих осередків мікропапілярних структур. Пухлинні клітини в усіх випадках СвК мали полігональну, кубоїдальну форму із рясною прозорою цитоплазмою та ядра із вираженим ступенем поліморфізму від малих округлих до великих поліморфних із легко помітними ядерцями. Проте мітотичні фігури не були такими, що їх можна легко ідентифікувати: 2,00 ± 0,11 (*рис. 3Б*).

У всіх досліджуваних НК поля солідних структур становили трохи більше ніж половину ТП із «домішкою» залозистих, трабекуло-, тубуло-кістозних паттернів і невеликих фокусів мікропапілярних і мікрофолікулярних структур. Пухлинні клітини мали гіперхромні ядра та виражений ступінь поліморфізму: від малих переважно округлих до великих плеоморфних із легко помітними ядерцями. Кількість мітозів сягала 5,00 ± 0,78 на 10 п/зр. В обох досліджуваних випадках НК спостерігали поля географічних некрозів, що займали від 5 % до 10 % ТП.

У всіх досліджуваних випадках ГрПЯ пухлинні клітини формували переважно трабекулярні (близько половини ТП) та мікрофолікулярні структури (третина ТП). Але виявили невеликі фокуси з макрофолікулами та солідними структурами, які загалом не перевищували 10 % ТП. Клітини новоутворень у всіх випадках були мономорфні, прозорі, ядра розташовані хаотично щодо одне до одного та до трабекул і фолікулів, кутасті та овальні, бліді. У третині випадків (31,2 %, n = 15) спостерігали повздовжні канавки, завдяки чому ядра нагадували кавові зерна. Кількість мітозів становила 1 на 10 п/зр у майже половині спостережень (54,2 %, n = 26). В іншій частині спостережень мітотичні фігури не виявили. Тільки в одному випадку визначили підвищену мітотичну активність: 4 мітози на 10 п/зр (*рис. 4*).

Імунофенотипи РЯ та ГрПЯ зазначали варіабельну експресію маркерів, які наведені в *таблиці 3*.

У 67 випадках РЯ (100 %) виявлена експресія маркера PanCK незалежно від рівня диференціювання новоутворень: позитивне мембранне забарвлення пухлинних клітин спостерігали в усіх ВСК (n = 5) і НСК (n = 46). У 20 випадках ГрПЯ (41,7 %) виявлена слабка, здебільшого мембранна PanCK+ реакція в частині клітин (від 10 % до 50 %) (*рис. 4*).

Особливої уваги потребує характер забарвлення на p53. По-перше, виявили суттєву різницю між забарвленням ВСК і НСК. Так, у жодному спостереженні ВСК не помітили мутантний тип експресії (ядерна реакція у більш ніж 10 % пухлинних клітин). У всіх НСК помітили обидва типи ІГХ ознак мутації TP53: забарвлення понад 10 % пухлинних клітин у 34,8 % (n = 16) та абсолютна відсутність ядерного фарбування (не виявили ознаки «wild type» p53) у 30 (65,2 %) випадках. В інших групах злоякісних новоутворень яєчника, що досліджували, мутантний тип експресії p53 не встановили.

Обговорення

Передусім привертає увагу розбіжність в епідеміологічних даних злоякісних пухлин яєчників. У здійсненій роботі значний відсоток випадків – 76,8 % – припадає на СК (серед яких тип I (ВСК) – 9,4 %, тип II (НСК) – 90,6 %), менший відсоток випадків – на ЕК (8,7 %) і СвК (5,8 %); поодинокі спостереження – МК (4,35 %), НК (2,9 %) і СМК (1,45 %). Порівнюючи із даними ВОЗ, тенденції щодо значного домінування СК та другого місця ЕК збігаються. Але відрізняються їхні відсоткові частки: ЕК – 10–15 %, МК – 3–4 %, СМК – 1 %, поодинокі випадки СвК, НК і СК типу I – до 5 %. Ця тенденція описана також у дослідженнях Ahn Geunghwan та Ekene Okoye. Якщо деякі гістологічні форми виявляють рідко і дуже рідко, як-от злоякісну пухлину Бреннера (<5 % від загальної кількості пухлин Бреннера) чи неінвазивну високодиференційовану серозну карциному, то в нашій роботі не виявили жодного такого випадку. До того ж у здійсненому дослідженні серед ГрПЯ всі випадки належали до дорослого типу, не виявили жодної ГрПЯ ювенільного типу, які, за класифікацією ВООЗ, становлять близько 5 % [5,6,10,14]. Таку різницю відсоткового співвідношення можна пояснити

тим, що в морфологічний відділ діагностичного центру потрапляли складніші в діагностичному сенсі випадки, зрозуміліші варіанти пухлин не потребували додаткової диференційної діагностики з використанням ІГХ-методу. Проте не можемо виключити можливість випадкового, помилкового включення «рідких» пухлин до інших нозологічних форм.

Незважаючи на те, що всі морфологічні форми злоякісних новоутворень яєчників доволі варіабельні за гістологічною будовою, необхідно наголосити на тих, що мали діагностичне значення та підтверджували опубліковані дані та тенденції [4,8,9,12,13].

Суттєвими відмінностями між ВСК і НСК були, по-перше, ступінь виразності поліморфізму, який «займав» понад 90 % ТП (незначний – для ВСК, виражений – для НСК), загальна кількість мітозів, що не перевищила 3 у жодному випадку ВСК, наявність здебільшого одного помітного ядерця у ВСК, декількох малих та/чи одного великого у НСК. По-друге, структурні формування, як-от макропапіли, що становлять не більше ніж 10 % ТП, можна використовувати як диференційно-діагностичний критерій для НСК. З іншого боку, не менш ніж фокальна (не менше ніж 15 % ТП) наявність папілярних утворень (макро- та/чи мікропапіл) є необхідною умовою для встановлення діагнозу НСК під час диференційно-діагностичного пошуку між гістологічними типами РЯ.

У всіх випадках НСК спостерігали гіперхромні, поліморфні, більші за розмірами порівняно з ВСК ядра, не визначили псаммомні тільця. Хоча, за даними ВООЗ, вони можуть рідко траплятися [14]. Можливо, це пов'язано з тим, що за умови їх наявності діагноз НСК не викликає труднощів і не потребує додаткової ІГХ-верифікації. Хоча, безумовно, цей гістологічний критерій не можна вважати високоспецифічним для СК і спиратися тільки на нього.

Визначення мікрофолікулярних структур потребує диференціації передусім із ГрПЯ. Так, і для ЕК, і для СК характерне зміщення співвідношення між солідним типом росту та формуванням мікрофолікулярних структур у бік першого, а ГрПЯ характеризувалися перевагою останніх. Morikazu Miyamoto та інші також визначили таку тенденцію [10].

Виявлення в СвК гніздоподібних утворень із наявністю невеликих осередків мікропапілярних структур потребує диференційної діагностики із СК. Враховуючи, що такі структури встановили в усіх спостереженнях СвК, діагностичне значення мала незначна (до 25 %) поширеність цього паттерна в ТП. Тобто фокальна наявність мікропапілярних структур діагнозу СвК не суперечить.

Отже, спираючись на особливості будови ядер, відсоткову частку тих чи інших утворень, ступінь поліморфізму та мітотичну активність, можна верифікувати більшість злоякісних пухлин яєчника. Відкритим залишається питання щодо новоутворень фокально папілярної будови із помірним і вираженим поліморфізмом без однозначної переваги одного з них та підвищеною мітотичною активністю (більше ніж 1 мітоз на 5 п/зр). Такі пухлини майже з однаковою ймовірністю можуть бути СК, ЕК, СвК, НК чи герміногенного походження. У такому випадку ключовим є ІГХ дослідження.

Результати щодо ІГХ профілю епітеліальних пухлин здебільшого збігаються з даними інших дослідників. Але в імунофенотипі ГрПЯ дорослого типу виявили забарвлення на PanCK «+» у значно більшому відсотку (41,7 %), за даними ВООЗ, цей показник не перевищує 25 % [2,5,6,11].

Спираючись на отримані результати, PanCK можна використовувати в панелі антитіл під час диференційно-діагностичного пошуку різних джерел гістогенезу злоякісних новоутворень яєчників, тільки враховуючи різний характер його забарвлення. Так, виражена мембранна з/без цитоплазматичного компонента реакція характерна для РЯ, а відсутність експресії чи її невиражений фокальний у частині пухлинних клітин варіант свідчить про ГрПЯ.

Маркер гістогенезу CA-125 має діагностичне значення: за умови виявлення «+» реакції необхідно передусім думати про РЯ, за її відсутності – імовірніший ГрПЯ. Навіть враховуючи різний характер забарвлення на цей маркер, його не можна використовувати як «патогномонічний» ІГХ-показник.

Позитивна реакція з Vimentin, яку спостерігали у 3 із 5 досліджуваних типів РЯ, істотно знижує його специфічність щодо верифікації ГрПЯ, незважаючи на чутливість. Проте його корисність під час диференційно-діагностичного пошуку аргументована передусім наміром підтвердити діагноз ГрПЯ.

Діагностичне значення маркера герміногенного диференціювання Calretinin стосувалося передусім ГрПЯ. Однак, за нашими даними, фокальна в частині пухлинних клітин реакція з цим маркером у новоутвореннях ендометріоїдної морфології та кругло-клітинних карциномах переважно солідної будови не виключає діагноз ЕК та НК відповідно, а лише підтверджує наявність герміногенного диференціювання.

У здійсненій роботі всі досліджувані НК мали фенотип Vimentin«+» / Calretenin «+», що, власне, не є рисою карциноми. Незважаючи на те, що таку аберантну експресію можна пояснити втратою рівня диференціювання клітин пухлини, цей факт суттєво ускладнює імуноморфологічну верифікацію діагнозу. Отже, за умови дослідження пухлини переважно солідної будови без мікрофолікулярних структур чи із фокальним їхнім поширенням, з високою мітотичною активністю та вираженим ступенем поліморфізму фенотип Vimentin «+» / Calretenin «+» не свідчитиме про ГрПЯ.

Щодо експресії маркера WT-1 зазначимо, що він є водночас високоспецифічним і високочутливим критерієм для встановлення діагнозу СК. Але наголосимо, що є ймовірність визначення його «+»-статусу в незначній кількості випадків (<5 %) неепітеліальних пухлин яєчника (ГрПЯ) та «-»-реакція у СК, особливо НСК.

Діагностичне значення маркера p53 встановлене для диференціації між ВСК і НСК. Окрім цього, він мав ключове значення в деяких випадках під час диференційно-діагностичного пошуку між НСК (p53 «+») і низькодиференційованими ЕК (p53 «-»), коли солідний компонент становив понад половину ТП. Хоча C. D. M. Fletcher зазначає, що використання цього маркера не є розв'язанням цього питання [7].

Статистичне опрацювання результатів підтвердило необхідність використання комбінації маркерів під час встановлення діагнозу, бо окремо для жодного маркера не визначили $p < 0,05$. Отже, залежно від комбінації однозначних і неоднозначних гістологічних особливостей необхідно підбирати специфічну панель ІГХ антитіл.

Висновки

1. Остаточна верифікація діагнозу злоякісних епітеліальних і гранульозоклітинних новоутворень яєчників у 66,67 % можлива лише за умови використання комплексу гістологічного методу та імуногістохімічного дослідження з залученням панелі антитіл, що підтверджено статистично ($p > 0,05$).

2. Імунофенотип серозної карциноми включав експресію PanCK, CK7, WT-1, EMA та CA-125; відсутність забарвлення на Vimentin, Calretenin та CK20. Крім того, всі високодиференційовані серозні карциноми характеризувалися наявністю експресії p53 за «wild type», а низькодиференційовані серозні карциноми мали чи «p53+» статус, чи повну його відсутність.

3. Муцинозні карциноми та ендометриоїдні карциноми мали схожий імунофенотип: «+»-реакція із PanCK, EMA та CA-125, «-»-реакція із Calretinin, WT-1, p53. Відмінності становили «CK7-/ CK20+/Vimentin-» та «CK7+/ CK20-/Vimentin+» відповідно.

4. У світлоклітинних карциномах характерний імунофенотип мав вигляд: «+»-реакція із PanCK, CK20, EMA та CA-125, «-»-реакція з Vimentin, Calretenin, CK-7, WT-1, p53.

5. Імунофенотип недиференційованих карцином включав «+»-реакцію з PanCK, CK7, EMA, CA-125, Vimentin, Calretenin, «-»-реакцію з CK-20, WT-1, p53.

6. Імунофенотип гранульозоклітинних пухлин яєчників мав вигляд: «+»-реакція з Vimentin, Calretenin та PanCK (41,7 %), «-»-реакція з CK7, CK20, WT-1, EMA, p53 та CA-125.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням діагностичних критеріїв патогістологічного дослідження епітеліальних пухлин яєчників на підставі визначення рівнів експресії різних маркерів і здійснення генотипування.

Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних і прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827, термін виконання 2016–2018).

Конфлікт інтересів: відсутній.
Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 08.05.2019
Після доопрацювання / Revised: 27.05.2019
Прийнято до друку / Accepted: 31.05.2019

Відомості про авторів:
Савченко О. А., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Шпонька І. С., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, перший проректор, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», заслужений діяч науки і техніки України, м. Дніпро.
ORCID ID: 0000-0002-7561-6489
Скорик В. Р., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Савченко П. В., студентка IV курсу, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Сведения об авторах:
Савченко О. А., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Шпонька И. С., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, первый проректор, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», заслуженный деятель науки и техники Украины, г. Днипро.
Скорик В. Р., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Савченко П. В., студентка IV курса, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Information about authors:
Savchenko O. A., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro.
Shponka I. S., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, First Vice-Rector, SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Dnipro.
Skoryk V. R., MD, PhD, DSc, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro.
Savchenko P. V., 4th year Student, SE «Dnipropetrovsk medical academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro.

Список літератури

[1] Бюлетень національного канцер-реєстру України №20 – «Рак в Україні, 2017–2018» / З. П. Федоренко та ін. Київ, 2019. С. 52–53.
[2] Иммуногистохимические особенности клеток серозной аденокарциномы яичников, определяющее клиническое течение заболевания и выживаемость больных / К. М. Пожарисский и др. *Архив патологии*. 2015. Т. 77. №1. С. 38–40. doi: 10.17116/patol201577138-.
[3] Савченко О. А., Шпонька И. С. Аналіз рівня експресії панцитокератинів в епітеліальних та гранульозо клітинних пухлинах яєчників. *Медичні перспективи*. 2018. Т. 18. С. 21–25. doi: https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2.133693
[4] Adult granulosacell tumors of the ovary: a retrospective study of 30 cases with respect to the expression of steroid synthesisenzymes / S. Kitamura et al. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2017. Vol. 28. Issue 4. P. e31. doi: 10.3802/jgo.2017.28.e31
[5] Adult Type Granulosa Cell Tumor of the Testis: Case Report and Review of the Literature / Z. Kucukodaci et al. *The Eurasian Journal of Medicine*. 2008. Vol. 40. Issue 1. P. 39–41.
[6] Clear cell carcinoma of the ovary: evaluation of prognostic parameters based on a clinicopathological analysis of 100 cases / J. A. Bennett et al. *Histopathology*. 2015. Vol. 66. Issue 6. P. 808–15. doi: 10.1111/his.12514
[7] Fletcher C. D. M. Diagnostic histopatology of tumors. PA : Elsevier, 2013. Vol. 1. P. 658–688.
[8] Low-grade Serous Carcinoma of the Ovary: Clinicopathologic Analysis of 52 Invasive Cases and Identification of a Possible Noninvasive Intermediate Lesion / G. Ahn, et al. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2016. Vol. 40. Issue 9. P. 1165–1176. doi: 10.1097/PAS.0000000000000693
[9] Okoye E., Euscher E., Malpica A. Ovarian Low-grade Serous Carcinoma: A Clinicopathologic Study of 33 Cases With Primary

Surgery Performed at a Single Institution. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2016. Vol. 40. Issue 5. P. 627–635. doi: 10.1097/PAS.0000000000000615
[10] Seromucinous component in endometrioid endometrial carcinoma as a histological predictor of prognosis / M. Miyamoto et al. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2018. Vol. 29. Issue 2. P. e20. doi: 10.3802/jgo.2018.29.e20
[11] Synchronous Endometrial and Ovarian Carcinomas: Evidence of Clonality / M. S. Anglesio et al. *Journal of the National Cancer Institute*. 2016. Vol. 108. Issue 6. djv428. doi: 10.1093/jnci/djv428
[12] McNamee T., Damato S., McCluggage W.G. Yolk sac tumours of the female genital tract in older adults derive commonly from somatic epithelial neoplasms: somatically derived yolk sac tumours. *Histopathology*. 2016. Vol. 69. Issue 5. P. 739–751. doi: 10.1111/his.13021
[13] The molecular mechanism of ovarian granulosa cell tumors / J. Li et al. *Journal of Ovarian Research.* 2018. Vol. 11. P. 13–20. doi: 10.1186/s13048-018-0384-1
[14] WHO Classification of tumors of female reproductive organs / R. J. Kurmanet al. Lyon : IARC, 2014. P. 307.

References

[1] Fedorenko et al. (2019) *Biuleten natsionalnoho kantser-reiestru Ukrainy №20 – «Rak v Ukraini, 2017–2018» [Bulletin of the National Chancery Register of Ukraine No.20. "Cancer in Ukraine 2017–2018"].* (P. 52–53). Kyiv. [in Ukrainian].
[2] Pozharisskiĭ, K. M., Raskin, G. A., Vinokurov, V. L., Iurkova, L. E., & Mukhina, M. S. (2015). Immunogistikhimicheskie osobennosti kletok seroznoi adenokarzinomy yaichnikov, opredeliaiushchie klinicheskoe techenie zabolevaniia i vyzhivaemost' bol'nykh [The immunohistochemical features of ovarian serous adenocarcinoma cells, which determine a disease course and survival rates in patients]. *Arhiv patologii*, 77(1), 38–40. [in Russian]. doi: 10.17116/patol201577138-
[3] Savshenko, O. A. & Shponka, I. S. (2018). Analis rivnia ekspresii pantsytokeratyniv v epitelialnykh ta hranulosoklitynnykh pukhlynakh yaiechnykiv [Analysis of the expression of pancitotereperatesinepithelialandgranulosicovariantumorcells.]. *Medychni perspektyvy*, 23(2). [in Ukrainian]. doi: https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2.133693
[4] Kitamura, S., Abiko, K., Matsumura, N., Nakai, H., Akimoto, Y., Tanimoto, H., & Konishi, I. (2017). Adult granulosa cell tumors of the ovary: a retrospective study of 30 cases with respect to the expression of steroid synthesis enzymes. *Journal of gynecologic oncology*, 28(4). e31. doi: 10.3802/jgo.2017.28.e31
[5] Kucukodaci, Z., Keles, M., Yapanoglu, T., Alp, B. F., Aksoy, Y., & Ozbey, I. (2008). Adult type granulosa cell tumor of the testis: case report and review of the literature. *The Eurasian journal of medicine*, 40(1), 39–41.
[6] Bennett, J. A., Dong, F., Young, R. H., & Oliva, E. (2015). Clear cell carcinoma of the ovary: evaluation of prognostic parameters based on a clinicopathological analysis of 100 cases. *Histopathology*, 66(6), 808–815. doi: 10.1111/his.12514
[7] Fletcher, C. D. M. (2013). *Diagnostic histopatology of tumors.*
[8] Ahn, G., Folkins, A. K., McKenney, J. K., & Longacre, T. A. (2016). Low-grade Serous Carcinoma of the Ovary. *The American journal of surgical pathology*, 40(9), 1165–1176. doi: 10.1097/PAS.0000000000000693
[9] Okoye, E., Euscher, E. D., & Malpica, A. (2016). Ovarian Low-grade Serous Carcinoma. *The American journal of surgical pathology*, 40(5), 627–635. doi: 10.1097/PAS.0000000000000615
[10] Miyamoto, M., Takano, M., Aoyama, T., Soyama, H., Yoshikawa, T., Tsuda, H., & Furuya, K. (2017). Seromucinous component in endometrioid endometrial carcinoma as a histological predictor of prognosis. *Journal of gynecologic oncology*, 29(2), e20. doi: 10.3802/jgo.2018.29.e20
[11] Anglesio, M. S., Wang, Y. K., Maassen, M., Horlings, H. M., Bashashati, A., Senz, J., et al. (2016). Synchronous endometrial and ovarian carcinomas: evidence of clonality. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 108(6). djv428. doi: 10.1093/jnci/djv428
[12] McNamee, T., Damato, S., & McCluggage, W. G. (2016). Yolk sac tumours of the female genital tract in older adults derive commonly from somatic epithelial neoplasms: somatically derived yolk sac tumours. *Histopathology*, 69(5), 739–751. doi: 10.1111/his.13021
[13] Li, J., Bao, R., Peng, S., & Zhang, C. (2018). The molecular mechanism of ovarian granulosa cell tumors. *Journal of ovarian research*, 11(1), 13. doi: 10.1186/s13048-018-0384-1
[14] Kurman, R. J., Carcangiu, M. L., Herrington, S., & Young, R. H. (2014). *WHO classification of tumours of female reproductive organs*. Lyon: IARC.