

Т.А. Малишева

Критерії інвазивності нейроектодермальних пухлин головного мозку

ДУ Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМНУ, м. Київ

Ключові слова: мозок, пухлини, інвазивність.

Визначено структурні критерії активності інвазії первинних пухлин головного мозку різного ступеня злоякісності. Описані зміни об'єктивізують агресивність новоутворення і мають прогностичне значення.

Критерии инвазивности нейроэктодермальных опухолей головного мозга

Т.А. Малишева

Изучены структурные критерии активности инвазии первичных опухолей головного мозга разной степени злокачественности. Описанные изменения объективизируют агрессивность новообразования и имеют прогностическое значение.

Ключевые слова: мозг, опухоли, инвазивность.**Патология.** – 2011. – Т.8, №3. – С. 65–69**Criteria of t neuroectodermal brain tumours invasiveness**

Т.А. Malysheva

Structural criteria of invasiveness activity of primary brain tumours of different degree of malignancy are studied. Described changes objectify aggressivity of a new growth and have prognostic value.

Key words: brain, tumours, invasiveness.**Pathologia.** 2011; 8(3): 65–69

Пухлини головного мозку посідають 9–10 місце в структурі онкологічної захворюваності та 6 місце серед причин смерті від злоякісних новоутворень [1]. Інвазивність НЕП у паренхіму мозку є суттєвою перешкодою в ефективному їх лікуванні [4,7,8]. Через високу здатність до активної міграції клітин НЕП вздовж провідних шляхів і периваскулярних просторів, що знаходяться поблизу вогнища первинної маси пухлини, хірургічне видалення НЕП рідко досягає бажаного результату – одужання [5,6]. Які ж структурно-біологічні властивості таких пухлин зумовлюють темпи росту пухлини, ширину й характер зони інвазії, напрямків її поширення, не з'ясовано до сьогодні. Відсутність таких даних зменшує можливість оптимізації лікувальних заходів, прогнозування наслідків захворювання і погіршує кінцевий результат. Клінічний досвід доводить, що дослідження феномену інвазії на «межі пухлина – мозкова речовина» надзвичайно складне, оскільки розроблені на сьогодні терапевтичні агенти поступаються за активністю й ефективністю дії антиінвазивним антиангіогенним факторам пухлини за здатністю до «виживання», що і зумовлює їх продовжений ріст. Актуальність дослідження інвазивності зумовлена недостатніми знаннями щодо напрямків і механізмів інвазивного поширення пухлин власне паренхіми головного мозку та регуляції їх прогресії [9–11].

Мета роботи

Аналіз особливостей інвазії при первинних пухлинах головного мозку різного ступеня злоякісності та визначення критеріїв активності їх поширення для удосконалення морфологічного діагностичного комплексу.

Матеріали і методи дослідження

Проведено ретроспективний аналіз медичної документації та біоптичного матеріалу 2 560 (1400 чоловіків і 1160 жінок) пацієнтів, які страждали на НЕП (за кодом ІС.71.), відповідно до міжнародної класифікації хвороб 10 видання (ВООЗ, 1996). Хворі перебували на лікуванні в нейроонкологічних клініках ДУ ІНХ НАМНУ з 1992 до 2002 року, серед них 474 померли. З загальної кількості 2560 хворих 344 пацієнта лікувались в установі повторно у зв'язку з продовженням ростом пухлини чи появою локальних метастазів, оперовані (304 – двічі, 37 – тричі, 5 – перенесли 4 операції).

Гістологічні дослідження біоптичного матеріалу проводили після хірургічного видалення пухлин. Вирізали фрагменти тканини з 2–3 ділянок (зон) пухлини (центральної, «живої» та «перифокальної» зони – візуальної межі з паренхімою мозку (матеріал обробляли за стандартними методиками парафінової заливки з фіксацією в нейтральному розчині формаліну 4% концентрації). Матеріал вивчали спочатку на малому (об'єктив $\times 10$, окуляр 10) збільшенні мікроскопу (для оцінки гістоархітекtonіки пухлини та її перифокальної зони), в подальшому – при різних збільшеннях (об'єктив $\times 40$ –80). Ступінь злоякісності (Grade) НЕП на нашому матеріалі визначали відповідно до класифікації пухлин ВООЗ, Ліон, 2007 [3].

У летальних випадках оцінювали топографічні особливості новоутворення, у цілісному вигляді та на серійних зрізах. Особливу увагу приділяли ділянкам, що оточували пухлинне вогнище за напрямками їх поширення. Детально вивчено тканину головного мозку з обліком локалізації патологічних змін в основному

вогнищі та довкола (у перифокальній пухлинній зоні (ППЗ)) із заборою зразків відповідних зон. При мікроскопічному дослідженні ушкоджень оболонок і речовини головного мозку використовували методики кількісного та якісного визначення патологічних змін відповідно до класифікації ВООЗ пухлин нервової системи [3] та класифікації ушкоджень головного мозку [2]. Оцінка цих даних включала огляд краніального та церебрального операційного дефекту, поширеність ушкодження пухлиною структур мозку (кількість уражених пухлиною часток і анатомічних утворень), наявність і виразність церебральних геморагічних, ішемічних вогнищ, ознак набряку і свідчень ліквородисциркуляції, типи та ступінь дислокаційних ускладнень; наявність супутньої церебральної та екстрацеребральної патології. На основі комплексного аналізу наведених даних сформульовано основну причину смерті. Після макро-мікроскопічного дослідження отримані на аутопсії фрагменти тканини пухлини і ППЗ (у різних зонах віддалення від основної маси пухлини) фіксували в розчинах нейтрального формаліну наростаючої концентрації (4%) не більше 24 годин і заливали в парафін за стандартною методикою. Серійні мікротомні зрізи (5 мкм) забарвлювали оглядовими методиками (гематоксиліном-еозинном, гематоксиліном-пікрофуксином) і спеціальними нейростологічними (тіоніном за Ніслем, методом Кульчицького) та імуногістохімічними методиками (ГФКБ, нестин, Ki-67, IPO-38, p-53, PKD1/2). Показники співвідношення клітин, що діляться і гинуть (апоптозний індекс і/або некрози обох типів або проліферативний індекс). Вивчення пухлинного матеріалу на гістологічних препаратах, забарвлених оглядовими та спеціальними методами із застосуванням гістохімічних методик, проводили за допомогою світлооптичного мікроскопу «Біолам» (ЛОМО) та світлового мікроскопа «Leica» (Німеччина) при збільшенні окуляр 10, об'єктив – 40–80. Дослідження проводили в 20 репрезентативних полях зору зі стандартною вимірною шкалою (об'єкт-мікромметр). Мікроморфометричні вимірювання виконували за допомогою об'єкт-мікромметра. Кількісно оцінювали площу клітин і відстань між клітинами за допомогою програми «Відеотест Морфологія 5,0». Математичну обробку отриманих клініко-морфологічних даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програми Microsoft Excel, визначаючи наступні показники: середнє значення, помилку середнього, достовірність відмінностей між групами, довірчий інтервал (р); відмінності між дослідженими групами вважали достовірними при $p < 0,05$. Для аналізу виживаності та вивчення чинників, що впливають на ці процеси, застосовували методи статистичної оцінки, об'єднані під загальною назвою «Аналіз виживаності» (Survival analysis) [Kaplan, Meier, 1958]. Порівняльна оцінка отриманих даних проведена з використанням Кокс-тесту і методу Вілкоксона-Гехана. Всі обчислення проведено за допомогою програми Statistica 6,0.

Результати та їх обговорення

Дифузні диференційовані астроцитомы (II ступеня злоякісності склали 12% спостережень). Майже 80% складають астроцитарні гліоми, з яких до 40% – їх анапластичні варіанти, на другому за частотою місці – змішані олігоастроцитомы. Олігодендрогліальні пухлини та епендимомы різного ступеня злоякісності трапляються з однаковою відсотковою частотою. Серед епендимарних пухлин майже 2/3 складають їх анапластичні варіанти. ПНЕП, ЦНС та гліосаркоми діагностують відносно рідко. Гліобластоми та мультиформний їх варіант виявляють майже з однаковою частотою (11% і 10% відповідно). На нашому матеріалі майже у 2/3 випадків (45,2%) на момент первинного звернення пухлиною були уражені 2 сусідні частки головного мозку. У 15,1% хворих на момент звернення була уражена вся півкуля головного мозку (табл. 1).

Таблиця 1

Поширеність НЕП на момент первинної діагностики (ураження пухлиною півкуль головного мозку)

Поширеність процесу на момент первинної діагностики (ураження півкуль)	Абсолютна кількість спостережень
Ураження однієї півкулі головного мозку (супра- та субтенторіально)	1997
Ураження обох півкуль головного мозку (супра- та субтенторіально)	387
Ураження стовбура головного мозку	176
Загалом	2560

Процес інвазії клітин НЕП зумовлює формування перифокальної пухлинної зони, що є «буфером» безпосередньо між власне тканиною пухлини і оточуючою мозковою речовиною. Саме ППЗ представляє великий інтерес у практичному плані, оскільки саме тут виявляються дуже складні взаємини між пухлиною і нервовою тканиною. Між структурно-біологічними особливостями гліальних пухлин мозку і станом мозкової речовини перифокальної зони, прикордонної між пухлиною і навколишньою нервовою тканиною, існує певна залежність. Морфологічна картина змін мозкової речовини поліморфна й характерна для всіх компонентів нервової тканини (нервових клітин, їх відростків, клітин глії у зоні поширення НЕП, стромальних елементів). Запропоновано вважати, що перифокальна перитуморозна зона (ППЗ) є зоною реактивних змін тканини мозку, що «активно» реагує на ріст пухлини і безпосередньо впливає на активність, що визначає її інвазивність. Умовно у ППЗ пропонуємо виділяти: 1) зону інвазії мозкової речовини, інфільтровану клітинами пухлини за межами власне пухлинного вогнища; 2) зону дистрофічно-дегенеративних змін у суміжній мозковій тканині з розвитком нейронофагії, аксонотомії, демієлінізації, перифокального набряку та дисметаболических змін; 3) зону реактивних змін в оточуючій мозковій речовині мозку та судинного ремоделювання тканини мозку, що оточує пухлину. Ширина умовної зони інвазії для різних гістологічних варіантів НЕП наведена на рис. 1.

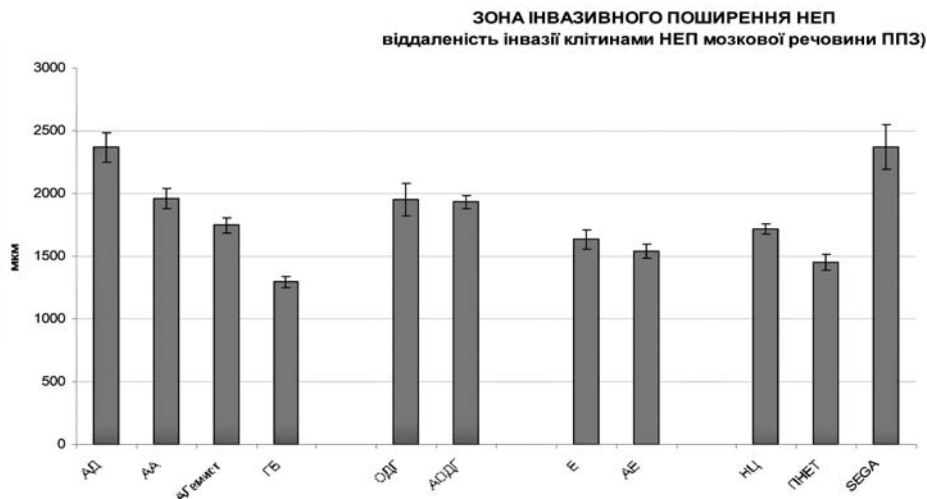


Рис. 1. Показники ширини умовної зони інвазії, залежно від гістологічного типу НЕП.

Зону вторинного пошкодження зі своєрідним балансом деструктивно-дистрофічних і пристосувально-компенсаторних (реактивних) змін можна розцінювати як область морфологічно збережених клітин, безпосередня близькість яких до зони первинного ураження зумовлює переважно функціональні розлади. Так, незворотні зміни переважають при вторинному дисметаболічному пошкодженні, коли нейрони знаходяться в стані нестійкої рівноваги («молекулярного струсу»), гинуть за відсутності «адекватного» гліального забезпечення. Поряд з ушкодженням власне клітин різного ступеня руйнація їх відростків і міжклітинних зв'язків мієлінових оболонок у нервових волокнах. Найбільше виражені зміни в мієлінізованих аксонах. Вони визначаються в кірковій речовині, ядрах підкіркових структур і чітко виявляються в провідних шляхах білої речовини. Всі волокна імпрегнуються сріблом вкрай нерівномірно. Відзначена нерівномірна товщина радіарних мієлінових волокон кори з колбоподібними здійманнями і фрагментацією. Деструктивні зміни в мієлінових волокнах мають осередковий характер, нерідко локалізуються на відділенні осередків некрозу або ділянок порушеного кровотоку. На оглядових препаратах аксональні кулі (АК) забарвлюються еозинофільно, мають округлу форму з не завжди чіткими межами. Ознака вторинної дегенерації білої речовини вздовж провідних шляхів – спрямоване (вздовж контурів дистрофічно змінених, набряклих аксонів) розташування значної кількості дрібних гранул дегенеруючого мієліну. Залежно від тривалості перебігу хвороби зазначені зміни поглиблюються, асони набувають звитості з варикозними потовщеннями й фокальною фрагментацією. Фокально активується й макрофагально-мікрогліальна система зі значним скупченням мієлінових шарів і гліальних зірок. Аксональні кулі можна виявити при застосуванні спеціальних методів забарвлення (сріблення), імуногістохімічно (АТ ГФКБ, нейрофіламентів). Зміни аксонів до формування власне мієлінового «шару» мають вигляд аксони початкової дегенерації: звитість

контурів нервових волокон, їх нерівномірне забарвлення. Нейрони з ушкодженим аксоном зазнають специфічних змін: відбувається ретроградна аксональна реакція (тіло нейрону набуває округлої форми з ознаками центрального хроматолізу й ектопії ядра).

При вивченні напрямків локального вторгнення вдалось виявити пухлинні клітини вздовж кровоносних судин, пучків мієлінових волокон (компактних провідних шляхів). При поширенні пухлинних клітин вздовж провідних шляхів вони переважно зосереджені інтрафасцикулярно чи перифасцикулярно. За рахунок подібності будови мієлінових провідних шляхів різних відділів ЦНС, зони «локальної інвазії» пухлинними клітинами можна виявити на значній відстані від первинного вогнища. Порушення проникності судинних мембран, поряд із підвищенням внутрішньочерепного тиску при рості НЕП і наростанні ступеня гідроцефалії, відіграє головну роль у розвитку набряку мозку, а порушення проникності клітинних мембран, поряд з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму, є істотним чинником розвитку набухання нейронів. Набряк речовини головного мозку є однією з причин розвитку феномена невідновлення кровотоку. Іншою причиною наростання набряку є блокада мікроциркуляції судин мозку, зумовлена порушенням функціонального стану системи регуляції агрегатного стану крові, розвитком стазу і мромбозу у ЦР ланці.

З метою визначення швидкості наростання пухлинної маси визначено показники кінетики (проліферація/апоптоз) НЕП та їх співвідношення (МІ/АІ). Коефіцієнт, вищий 1,5, є ознакою «агресивного фенотипу» НЕП і несприятливого прогнозу перебігу.

ППЗ формуються особливі умови функціонування, що характеризуються локальним набряком, тканинним ацидозом, розладом регуляції судинного тону. Під впливом патогенних чинників у цій області виникають структурні порушення, що включають механізми програмованої клітинної загибелі (апоптозу), навіть у разі

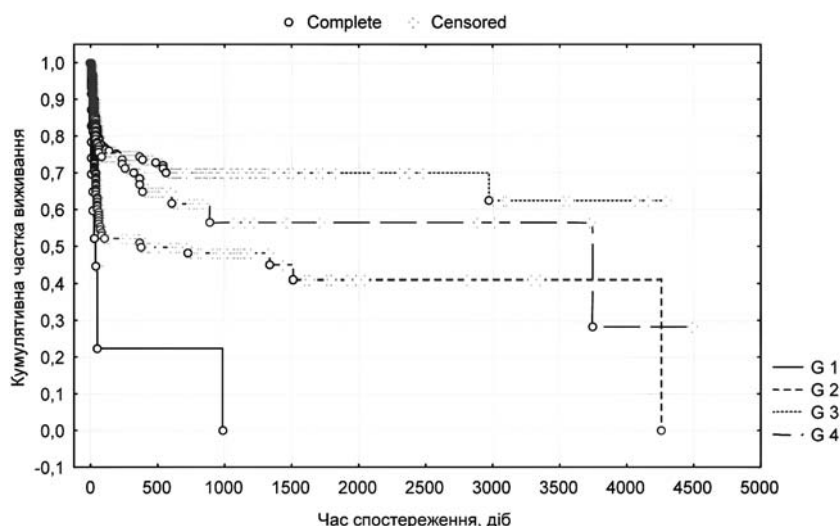


Рис. 2. Криві виживання хворих від продовженого росту пухлини і ступеня злоякісності НЕП.

збереження морфологічної цілісності клітин. Отже, частина клітин зони вторинного пошкодження ППЗ гине, інша частина у зоні первинного ураження (ЗІ) переживає критичну ситуацію, зберігаючи на момент дослідження структурні ознаки (персистенція нейронів (темні клітини) – перинеурональний ріст НЕП), проте ці клітини вважають ушкодженими «клітинами-каліками» з обмеженим терміном функціонування і низькою життєздатністю.

Методом кореляційного аналізу встановлено тенденції залежності уражень функціонально важливих зон головного мозку від гістологічного типу НЕП. Встановлено достовірний позитивний зв'язок ураження ФВЗ при пілоцитарних ($p=0,004$), анапластичних астроцитом (астроцитом) ($p=0,035$), гліобластомах ($p=0,0001$), анапластичних олігоастроцитом (олігоастроцитом) ($p=0,0001$). Для анапластичних епендимом виявлено високу достовірну залежність ($p=0,0001$). Саме гліоми усіх ступенів диференціювання за даними кореляційного аналізу уражають високо спеціалізовані функціонально важливі зони мозку, в яких відбуваються процеси (інтеграції, обробки й збереження інформації про певні функції), що обмежує можливість їх радикального видалення.

Висновки

На основі оцінки структурних змін співвідношення дегенеративно-реактивних змін речовини мозку пропонуємо вважати, що інфільтрація – процес занурення пухлини без структурних ознак деструкції з переважанням реактивно-гіперпластичних змін у перифокальній зоні зі збереженням загальних рис архітеконики тканини. Інвазія – патологічний процес поширення пухлини з чіткими вірогідними ознаками переважання деструктивно-дегенеративних змін клітинних і позаклітинних структур головного мозку над реактивно-гіперпластичними з порушенням гістоархитектоники певної анатомічної ділянки головного мозку.

Встановлено варіанти росту НЕП: 1) «умовно експансивний», притаманний лише пілоцитарним

астроцитом (0,66%) і субепендимом (0,27%) з «розшаруванням» волокон компактних провідних шляхів; 2) «експансивно-інфільтративний», притаманний гліобластомам, мультиформним (10,6%) та анапластичним олігодендрогліомам (2,2%) і анапластичним епендимом (2,9%), а також центральним нейроцитом (1,5%); 3) інфільтративно-інвазивний, властивий (гліобластомам (11%), ПНЕП (1,4%), дифузним (12%) та анапластичним астроцитом (39,7%).

При дослідженні кінетичних показників визначено співвідношення рівнів проліферації та апоптозу НЕП (Індекс проліферації ДА/АА/ГБ складає 3,8/6,5/6,9 – 7,1 відповідно). Індекс апоптозу ДА/АА/ГБ складає 5,4/4,0/3,2 – 1,8 відповідно. Розроблено індекс кінетики пухлини шляхом співвідношення ($KI=MI/AI$). Коефіцієнт KI, вищий за 0,8, є ознакою «біологічної агресивності» НЕП і несприятливого прогнозу перебігу захворювання.

Отже, у патогенезі інвазії НЕП важливу роль відіграє ушкодження і реактивні зміни в ППЗ гліоцитів, структурні порушення мієлінізації волокон, дистрофічні зміни нейронів, ознаки порушення кровообігу, що сприяють виникненню гіпоксії. Морфофункціональний стан нейроглії визначає можливість реалізації реактивно-приспосувальних реакцій пухлинного процесу. Однією з причин дезорганізації мієлінових волокон є ушкодження нейронів. Важливу роль відіграє стан нейропилу, олігодендроцитів, відповідальних за продукцію мієліну, астроцитарної глії, що зумовлено структурно-функціональним зв'язком між нейронами та відновленням міжклітинних зв'язків у функціональних модулях нейронів із глією, мікросудинами [10]. Демієлінізація нервових волокон, порушення формування мієлінової оболонки призводить до ушкодження провідникової функції відростків нейронів.

Встановлено, що ступінь виразності демієлінізації корелює зі ступнем дедиференціювання НЕП і місцем первинної локалізації пухлини, комплексну патоморфологічну діагностику НЕП, що дає змогу скласти уявлення

про активність інвазії (її характер, особливості й шляхи реалізації), із залученням сучасних морфометричних та імуногістологічних методів необхідно доповнити детальним дослідженням особливостей ППЗ цих пухлин, оскільки саме вони значною мірою характеризують активність інвазивного росту і можуть слугувати прогностичними критеріями продовженого росту.

Література

1. Розуменко В.Д. Эпидемиология глиом и факторы риска их развития. Глиомы головного мозга (современное состояние проблемы и пути дальнейших поисков) / В.Д. Розуменко, Ю.А. Орлов; под ред. Ю.А. Зозули – К., 2007. – С. 19–34.
2. Хоминский Б.С. Гистологическая диагностика опухолей центральной нервной системы / Б.С. Хоминский. – М.: Медицина, 1969. – 240 с.
3. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, W.K. Cavenee, P.C. Burger, A. Jouvet, B.W. Scheithauer, P. Kleihues // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Vol. 114, №2. – P. 97–109.
4. Burger P.C. The anatomy of astrocytomas / P.C. Burger // *Mayo Clin. Proc.* – 1987. – Vol. 62. – P. 527–529.
5. Invasive glioma cells in tissue culture / M. Luiul-Johansen, O. Engebraaten, R. Bjerkvig [et al.] // *Anticancer Res.* – 1990. – Vol. 10. – P. 1135–1151.
6. Invasion of reconstituted basement membrane matrix is not correlated to the malignant metastatic cell phenotyp / A.C. Noel, A. Calle, H.P. Emonard [et al.] // *Cancer Res.* – 1991. – Vol. 51, №1. – P. 405.
7. Collins V.P. Brain Tumours: Classification and Genes / V.P. Collins // *J. On Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* – 2004. – Vol. 75. – P. 2–11.
8. Ohnishi T. Motility factor produced by malignant glioma cells: Role in tumor invasion // T. Ohnishi, N. Arita, T. Hayakawa [et al.] // *J. Neurosurg.* – 1990. – Vol. 73. – P. 881–888.
9. Нейронально-глиальные опухоли центральной нервной системы у детей Избранные вопросы онкоморфологии: Сб. научн. работ / [Д.Г. Григорьев]; Под ред. проф. Г.И. Кравцовой. – Минск: МГМИ, 2000. – С. 45–53.
10. Шепелева И.И. Нейрогенные молекулы клеточной адгезии (структура, функции и клинко-диагностическая перспектива) / И.И. Шепелева, В.П. Чехонин // *Неврология и психиатрия.* – 1996. – №5. – С. 113–118.
11. Нейроэпителиальные опухоли мозга. Факторы прогноза в онкологии / [К. Nomura, A.B. Karim]; пер. с англ.; под ред. В.Е. Кратенка – Мн.: Белорусский центр научной медицинской информации, 2000. – С. 294–300.

Відомості про автора:

Малишева Т.А., к. мед. н., ст. науковий співробітник відділу нейропатоморфології ДУ «Інститут нерохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України».

Адреса для листування:

Малишева Тетяна Андріївна. 04050, м. Київ, вул. П. Майбороди, 32, відділ нейропатоморфології.

Тел.: (044) 483 92 08.

E-mail: morpho.neuro@gmail.com